

**PERANAN *Saccharomyces cerevisiae* SEBAGAI  
ANTAGONIS TERHADAP *Fusarium* sp. PADA CABI**

Oleh

**ANGGITA CAHYA KAMILA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG**

**2018**

**PERANAN *Saccharomyces cerevisiae* SEBAGAI  
ANTAGONIS TERHADAP *Fusarium* sp. PADA CABAI**

**OLEH**

**ANGGITA CAHYA KAMILA**

**135040207111046**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI  
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh**

**Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**MALANG**

**2018**



## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, April 2018

Penulis



**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul : Peranan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Antagonis terhadap *Fusarium* sp. pada Cabai

Nama : Anggita Cahya Kamila

NIM : 135040207111046

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II,

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.  
NIP. 19771130 200501 1 002

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.  
NIP. 2013048 410141001

Diketahui,  
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.  
NIP. 19551018 198601 2 001

**Tanggal Persetujuan:**



## LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan  
**MAJELIS PENGUJI**

Penguji I

Penguji II

Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.  
NIP. 19720919 199802 1 001

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.  
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji III

Penguji IV

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.  
NIP. 2013048 410141001

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.  
NIP. 19580208 198212 1 001

**Tanggal Lulus:**



*Dengan segala kerendahan hati ku persembahkan skripsi ini spesial  
untuk Ayah, Ibu dan Kakak tercinta. Juga sahabat-sahabat yang  
telah memberikan warna pada kehidupanku.*

*Terima kasih untuk semua Do'a yang tulus, pengertian, pengorbanan  
dan perjuangan yang telah diberikan selama ini.*

## RINGKASAN

**Anggita Cahya Kamila. 135040207111046. Peranan *Saccharomyces cerevisiae* Sebagai Antagonis Terhadap *Fusarium* sp. Pada Cabai. Dibawah Bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.**

---

Penelitian peranan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai antagonis terhadap *Fusarium* sp. pada cabai bertujuan untuk mengetahui antagonisme *S. cerevisiae* dalam menekan pertumbuhan *Fusarium* sp. pada cabai, mengetahui media yang memiliki kepadatan sel tertinggi dari perbanyakan *S. cerevisiae* pada berbagai media tumbuhnya, dan mengetahui waktu perkembangbiakan yang optimal bagi khamir *S. cerevisiae* pada berbagai media tumbuhnya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2018, bertempat di Laboratorium Mikologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

Penelitian ini meliputi isolasi khamir *S. cerevisiae*, identifikasi khamir *S. cerevisiae*, identifikasi isolat patogen *Fusarium* sp. pada cabai, pembuatan suspensi khamir *S. cerevisiae*, uji perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* dalam media limbah cair tahu, air leri, dan air kelapa, uji antagonis khamir *S. cerevisiae* dengan patogen *Fusarium* sp. secara in vitro.

Dari hasil pengamatan khamir *S. cerevisiae* memiliki koloni berbentuk bulat, berwarna putih agak kekuningan, permukaan lembut, licin dan tekstur lunak, serta memiliki tepian yang bergigi dan multilateral budding. Uji perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* didapatkan populasi sel khamir tertinggi pada media air kelapa dibandingkan dengan media lainnya. Pengamatan *Fusarium* sp. memiliki pola persebaran bulat menggunung berwarna putih seperti kapas kemudian berubah menjadi putih agak kekuningan dengan tekstur lembut atau halus, kepadatan yang rapat dan tebal. Uji antagonis khamir terhadap patogen *Fusarium* sp. secara in vitro, khamir memiliki kemampuan mengendalikan patogen *Fusarium* sp. Pada perlakuan P1 (0 HSI) dan P2 (3 HSI) dari hari ke-1 hingga hari ke-7 pengamatan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan, dimana perlakuan P2 berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dengan persentase hambatan 17,67%. Sedangkan perlakuan P1 menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan P2 dengan persentase hambatan yaitu sebesar 23,67%.

## SUMMARY

**Anggita Cahya Kamila. 135040207111046. Role of *Saccharomyces cerevisiae* is as the Antagonist toward *Fusarium* sp. To Chili. Guided by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.**

---

Research of *Saccharomyces cerevisiae* role is as the antagonist toward *Fusarium* sp to chili having a purpose to know the antagonist of *S. cerevisiae* to depress *Fusarium* sp growth to chili, to know the media which has the highest cell density of increasing of *S. cerevisiae* to various media to grow, and to know the optimal breeding time for the *S. Cerevisiae* khamir to any various media to grow. This research was carried out in January to March in 2018, in Mikology Laboratory the Department of Plant Diseases, Agriculture Faculty, and Microbiology Laboratory, Medicine Faculty, Brawijaya University.

This research includes the *S. cerevisiae* khamir isolation, the *S. cerevisiae* khamir identification, the *Fusarium* sp. pathogen isolate identification to chili, the making of *S. cerevisiae* khamir suspension, the test of *S. cerevisiae* khamir breeding in media of tofu liquid waste, rice liquid waste, and coconut water, the test of *S. cerevisiae* khamir antagonist with *Fusarium* sp. pathogen in a vitro manner.

From the observation result that *S. cerevisiae* khamir has colony in round shape, white to yellowish color, smooth soft surface, and soft texture, with having jagged edge and multilateral budding. The test of *S. cerevisiae* khamir breeding gotten the population of the highest khamir cell in the coconut water compared by other media. The observation of *Fusarium* sp. has spreading pattern in pile up round, white like cotton in color then it converts to be white to yellowish with smooth soft texture, the density is thick and dense. The test of khamir antagonist to the *Fusarium* sp. pathogen in a vitro manner, the khamir has ability to hold the *Fusarium* sp. pathogen. In the first treatment T1 (0 HSI) and second treatment T2 (3 HSI) from the 1<sup>st</sup> to 7<sup>th</sup> day observation showed the real different influence between the treatment, where the 2<sup>nd</sup> treatment T2 is real different from the control treatment with the obstacle percentage 17.67%. While the 1<sup>st</sup> treatment T1 showed the real different influence from the 2<sup>nd</sup> treatment T2 with the obstacle percentage namely 23.67%.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Peranan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Antagonis terhadap *Fusarium* sp. pada Cabai”.

Skripsi dapat terselesaikan dengan adanya bantuan dari berbagai pihak.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Anton muhibuddin, SP., MP. selaku dosen pembimbing utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP.,MP. selaku dosen pembimbing pendamping atas segala kesabaran, nasihat, arahan, dan bimbingannya kepada penulis.
2. Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. dan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. selaku penguji atas nasihat dan arahan kepada penulis.
3. Dr. Ir. Ludji Pandja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
4. Tomo Agus S., ST. selaku laboran Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman atas bantuan dan masukannya selama penelitian berlangsung hingga akhir penyusunan skripsi ini.
5. Kedua orang tua dan keluarga besar yang selalu memberi semangat, doa dan motivasi kepada penulis.
6. Sahabat penulis, teman-teman satu bimbingan skripsi, HPT angkatan 2013, dan semua pihak yang telah memberi bantuan, saran dan dukungan kepada penulis.

Penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pemikiran bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, April 2018

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Surabaya, 12 Agustus 1995 sebagai putri kedua dari Bapak Hartijono dan Ibu Sri Hastuti. Penulis merupakan putri kedua dari dua bersaudara. Penulis memiliki kakak laki-laki bernama Messikh Balin Naufal.

Penulis menempuh pendidikan pendidikan dasar di SD Negeri Kandangan III Surabaya (2001-2007). Penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 3 Surabaya (2007-2010). Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 12 Surabaya (2010-2013). Selama menjadi siswa di SMA Negeri 12 Surabaya penulis pernah mengikuti ekstrakurikuler teater dan penyiar radio. Pada tahun 2013, penulis terdaftar sebagai mahasiswa strata 1 program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Seleksi Program Minat dan Kemampuan (SPMK). Saat peminatan, penulis mengambil jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT).

Selama menempuh pendidikan di Perguruan Tinggi, penulis pernah menjadi asisten praktikum Manajemen Hama dan Penyakit Terpadu (2016) dan Manajemen Agroekosistem (2017). Penulis pernah mengikuti organisasi sebagai anggota Departemen Informasi dan Komunikasi Kesekretariatan Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman serta mengikuti beberapa kepanitiaan yang ada di Universitas Brawijaya, diantaranya penulis pernah menjadi anggota Divisi Humas Klinik Tanaman dan Ketua Divisi Perlengkapan, Dekorasi, dan Dokumentasi (PDD) di kepanitiaan Arthropoda 2016. Selain itu penulis pernah melaksanakan kegiatan magang kerja di Balai Karantina Surabaya selama 3 bulan dari bulan Juli-Oktober 2016.



## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
I. PENDAHULUAN .....	1
Latar Belakang .....	1
Rumusan Masalah .....	2
Tujuan Penelitian .....	2
Hipotesis Penelitian .....	2
Manfaat Penelitian .....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	3
Morfologi dan Klasifikasi <i>S. cerevisiae</i> .....	3
Siklus Hidup <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	5
Faktor yang Berpengaruh Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i> .....	6
Macam-macam Media Pertumbuhan Khamir .....	7
Perhitungan Kerapatan .....	8
Fermentasi oleh <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	9
Peranan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sebagai Pengendali Hayati .....	13
Limbah Air Tahu .....	14
Limbah Air Cucian Beras .....	16
Limbah Air Kelapa .....	18
<i>Fusarium</i> sp. ....	20
Morfologi <i>Fusarium</i> sp. ....	20
Siklus Hidup <i>Fusarium</i> sp. ....	21
Faktor-Faktor Pertumbuhan <i>Fusarium</i> sp. ....	22
Pengendalian Hayati .....	23
III. METODOLOGI .....	26
Waktu dan Tempat .....	26
Alat dan Bahan .....	26
Metode Penelitian .....	26
Persiapan Penelitian .....	27

Sterilisasi Alat .....	27
Penyiapan Media untuk Pertumbuhan Khamir .....	27
Penyiapan Media untuk Patogen dan Uji Antagonis.....	27
Pelaksanaan Penelitian.....	28
Identifikasi Khamir .....	29
Isolasi dan Identifikasi Patogen <i>Fusarium</i> sp. ....	29
Pembuatan Media Perbanyak Khamir.....	30
Uji Perkembangbiakan <i>S. cerevisiae</i> pada Berbagai Media .....	30
Uji Antagonis <i>S. cerevisiae</i> dengan Jamur <i>Fusarium</i> sp. ....	31
Parameter Pengamatan .....	31
Jumlah Populasi .....	31
pH dan Suhu.....	32
Tingkat Hambatan Relatif .....	32
Analisis Data .....	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
Identifikasi <i>S. cerevisiae</i> .....	33
Isolasi dan Identifikasi Patogen <i>Fusarium</i> sp.....	34
Pengaruh Jenis Media terhadap Populasi Khamir .....	35
Uji Antagonis <i>S. cerevisiae</i> terhadap <i>Fusarium</i> sp. ....	38
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	42
Kesimpulan .....	42
Saran .....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN .....	51



## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kandungan limbah air tahu .....	15
2.	Kandungan air cucian beras .....	17
3.	Komposisi buah kelapa segar pada 3 tingkatan umur .....	18
4.	Perlakuan lama inkubasi khamir pada berbagai media .....	30
5.	Perlakuan uji antagonis <i>S. cerevisiae</i> terhadap <i>Fusarium</i> sp. ....	31
6.	Populasi <i>S. cerevisiae</i> pada beberapa jenis media .....	35
7.	Pengamatan suhu dan pH .....	37
8.	Rerata persentase hambatan khamir <i>S. cerevisiae</i> terhadap pertumbuhan patogen <i>Fusarium</i> sp. pada 7 HSI.....	39

## Lampiran

1.	Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> YEPD (kontrol) .....	51
2.	Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> Air Tahu .....	51
3.	Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> Air Leri .....	51
4.	Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> Air Kelapa .....	51
5.	Daftar Sidik Ragam Populasi Khamir pada Berbagai Media.....	52
6.	Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 2 .....	52
7.	Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 3 .....	52
8.	Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 4 .....	52
9.	Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 5 .....	53
10.	Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 6 .....	53
11.	Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 7 .....	53
12.	Perhitungan Antagonis HSI ke 7 .....	53

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Bentuk Sel Khamir .....	3
2.	<i>S. cerevisiae</i> perbesaran 10x40.....	4
3.	Limbah tahu.....	14
4.	Air Leri .....	17
5.	Kelapa .....	19
6.	Morfologi <i>Fusarium</i> sp. secara mikroskopis .....	21
7.	Kerangka operasional penelitian .....	28
8.	Bagan uji antagonis secara in vitro pada petridish .....	32
9.	Makroskopis dan mikroskopis <i>S. cerevisiae</i> .....	33
10.	Pengamatan Jamur <i>Fusarium</i> sp. ....	35
11.	Antagonis khamir <i>S. cerevisiae</i> terhadap patogen <i>Fusarium</i> sp. ....	41
	Lampiran	
1.	Perkembangbiakan khamir dalam berbagai media.....	54

## I. PENDAHULUAN

### Latar Belakang

*Fusarium* sp. merupakan penyakit penting pada tanaman cabai termasuk patogen tular tanah yang dapat menyerang akar sehingga menyebabkan penyakit layu dan busuk. *Fusarium* sp. dapat bertahan dalam tanah dengan bentuk klamidospora dalam jangka waktu tidak terbatas walaupun tidak ada tanaman inang (Sastrahidayat, 1990). Beberapa spesies *Fusarium* sp. menginfeksi bagian tanaman mulai dari akar, batang, daun, bunga dan biji (AVRDC, 2010). Patogen menginfeksi jaringan pembuluh tanaman sehingga menyebabkan terjadinya penghambatan pada penyerapan air dan unsur hara. Pada gejala lanjut, daun-daun tanaman bagian bawah akan menguning dan tanaman akan layu. Apabila batang dibelah, maka tampak gejala internal berupa terjadinya nekrosis pada jaringan pembuluh.

Perkembangbiakan dari jamur ini secara aseksual baik di dalam tanah maupun pada biakan murni memproduksi tiga macam spora yaitu mikrokonia, makrokonia dan klamidospora. Upaya pengendalian terhadap patogen layu fusarium telah banyak dilakukan baik perlakuan secara fisik maupun perlakuan kimia. Namun upaya pengendalian dengan pemanfaatan agens hayati seperti khamir belum banyak dilakukan. Salah satu khamir yang dapat digunakan yaitu khamir *Saccharomyces cerevisiae*.

Khamir merupakan salah satu mikroorganisme antagonis (Kumar *et al.*, 2007). Khamir filum Ascomycota memiliki kemampuan antagonis. Menurut El-Tarably dan Sivasithamparam (2006) khamir Ascomycota yang memiliki kemampuan antagonisme antara lain, khamir genus *Aureobasidium*, *Candida*, *Saccharomyces*, dan *Pichia*. Khamir antagonis dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen (Pimenta *et al.*, 2009). Selain itu, *S. cerevisiae* juga sangat mudah ditumbuhkan pada berbagai media asalkan terdapat sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral serta air (Wibowo, 1990). Sifat utama khamir adalah memiliki toleransi yang tinggi terhadap alkohol sehingga umum digunakan dalam proses fermentasi (Crueger, 1990).

Berbagai macam media tumbuh yang dapat digunakan untuk menumbuhkan *S. cerevisiae* dengan mudah dan lebih ekonomis, yaitu dengan

menggunakan limbah. Limbah merupakan bahan yang terbuang atau dibuang dari suatu aktivitas manusia atau proses alam yang tidak atau belum mempunyai nilai ekonomi dan berdampak negatif pada lingkungan (Djaja, 2008).

### **Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Media apa yang memiliki populasi sel tertinggi pada perbanyakan *S. cerevisiae* pada beberapa jenis media?
2. Bagaimana antagonisme *S. cerevisiae* dalam menekan pertumbuhan *Fusarium* sp. pada cabai?

### **Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Mengetahui media yang memiliki kerapatan sel tertinggi dari perbanyakan *S. cerevisiae* pada berbagai media tumbuhnya.
2. Mengetahui antagonisme *S. cerevisiae* dalam menekan pertumbuhan *Fusarium* sp. pada cabai.

### **Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini, yaitu:

1. Media air kelapa menghasilkan sel *S. cerevisiae* dengan jumlah populasi tertinggi dibandingkan dengan media limbah air tahu, air leri, dan kontrol.
2. *S. cerevisiae* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp.

### **Manfaat Penelitian**

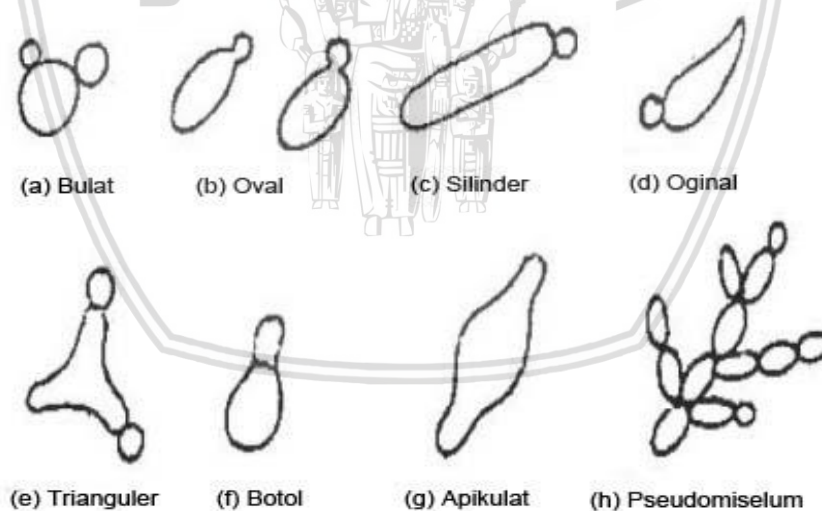
Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan tentang pengelolaan OPT yang disebabkan oleh jamur dan dapat digunakan sebagai motivasi masyarakat untuk memanfaatkan khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai agensia hayati.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

#### Morfologi dan Klasifikasi *S. cerevisiae*

Khamir merupakan organisme uniseluler, memiliki ukuran sel lebih besar daripada sel bakteri, bersifat fakultatif aerob, dan tumbuh baik pada substrat yang mengandung gula (Madigan *et al.*, 2012). Khamir hidup sebagai saprofit atau parasit yang secara morfologi hanya membentuk blastospora berbentuk bulat lonjong, silindris, segitiga melengkung, apikulat (lemon), oval, atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya (Gambar 1). Setiap sel khamir memiliki ukuran yang beragam, dengan luas 2-3  $\mu\text{m}$  hingga 20-50  $\mu\text{m}$ , panjang dan lebar 1-10  $\mu\text{m}$ . Khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar, dan dinding sel yang lebih kuat daripada bakteri, serta tidak melakukan fotosintesis dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan ganggang atau alga. Khamir bersifat antimikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Khamir memiliki sifat tahan terhadap cekaman lingkungan, sehingga dapat bersaing dengan mikroorganisme lain (Widyastutik *et al.*, 2014).

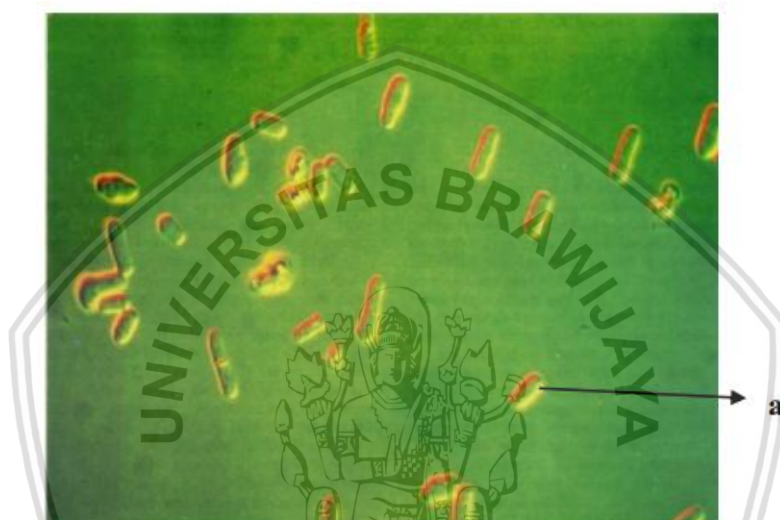


Gambar 1. Bentuk Sel Khamir (Hogg, 2005)

*Saccharomyces* berasal dari bahasa Latin Yunani yang berarti “gula jamur” sedangkan *cerevisiae* berasal dari bahasa Latin yang berarti bir (Sukoco, 2010.). *S. cerevisiae* merupakan mikroba fakultatif aerob yang dapat menggunakan baik sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari proses pemecahan glukosa, tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan aktivitasnya pada suhu 28-32°C (Kartika *et al.*, 1992). Khamir ini bersifat non-

patogenik dan non-toksik sehingga banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pembuatan roti dan alkohol (Buckle dkk., 2007). Jenis khamir yang merupakan produsen utama alkohol adalah *S. cerevisiae* (Taufika, 2011).

Menurut Sanger (2004), tingkatan taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* adalah Kingdom: Fungi, Filum: Ascomycota, Sub Filum: Saccharomycotina, Kelas: Saccharomycetes, Ordo: Saccharomycetales, Famili: Saccharomycetaceae, Genus: *Saccharomyces*, dan Spesies: *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar 2. *S. cerevisiae* perbesaran 10x40; a. Sel tunggal (Jean-Michael, 2005)

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme penghasil amilase yang cukup berpotensi, selain bakteri dan kapang. Enzim amilase diproduksi di luar sel oleh beberapa jenis yeast *Saccharomycopsis fibuliger*, *S. diaticus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schwaniomyces occidentalis*, dan *Candida* serta *Pichia* (De Mot, 1990). *S. cerevisiae* dapat berkembangbiak dengan membelah diri melalui “*budding cell*”. Reproduksi dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel. Khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar, dan dinding sel yang lebih kuat daripada bakteri, serta tidak melakukan fotosintesis dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan ganggang atau alga. Jenis khamir yang merupakan produsen utama alkohol adalah *S. cereviceae* (Rahmi, 2011). Penampilan makroskopik mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak dan memiliki sel bulat dengan akospora 1-8 buah (Lodder, 1970).



Khamir jenis *S. cereviceae* sangat mudah ditumbuhkan dan membutuhkan nutrisi yang sederhana, laju pertumbuhannya sangat cepat dan stabil, dan aman digunakan sebagai *food grade organism*. Dengan karakteristik tersebut *S. cereviceae* lebih banyak berperan dalam pembuatan roti dibandingkan dengan jenis khamir lainnya (Arnata, 2009). Khamir ada yang bermanfaat ada pula yang membahayakan bagi manusia. Khamir yang tidak diinginkan adalah yang pada makanan dan menyebabkan kerusakan pada saurkraut, juice buah, sirup, molase, madu, jelly, daging dan sebagainya. Khamir dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Selain itu untuk menunjang kebutuhan hidup diperlukan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen. Pada uji fermentasi gula-gula mempunyai reaksi positif pada gula dekstrosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, raffinosa, trehalosa, dan negatif pada gula laktosa (Lodder, 1970). *S. cerevisiae* juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks, dan tidak menularkan atau menimbulkan penyakit (Amaria dkk., 2001). *S. cerevisiae* sangat mudah ditumbuhkan pada berbagai media asalkan terdapat sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral serta air (Wibowo, 1990).

### **Siklus Hidup *Saccharomyces cerevisiae***

Siklus hidup *S. cerevisiae* dengan *mitotically* (pembelahan sel) dan menyebar (propagasi) dalam bentuk haploid dari dua jenis perkawinan yang berbeda, dan bentuk haploid yang dapat tumbuh baik secara vegetatif atau diinduksi menjadi jalur perkembangan meiosis melalui manipulasi kondisi nutrisi media pertumbuhan. Jalur selular seperti proses metosis proliferasi, sel yang mengatur pengenalan (*recognition*) dan perkawinan (*mating*), meiosis dan sporulasi telah dipelajari secara ekstensif pada tingkat molekuler, dan dipahami secara umum baik. Pertumbuhan mitosis sel *S. cerevisiae* melibatkan pembelahan (*budding*) (Kavanagh, 2005).

Selama proses pertumbuhan ini sel diarahkan ke lokasi tertentu di permukaan sel induk, dan sel baru terbentuk agak seperti meledakkan balon melalui lubang di sel induk. Hal ini melibatkan pertumbuhan yang sangat terpolarisasi dari mengembangkan sel anak, yang melibatkan baik aktin dan mikrotubulus berbasis jaringan cytoskeletal, dan erat dikoordinasikan dengan siklus sel. koordinasi ini memastikan bahwa sel anak menerima salinan lengkap dari bahan genetik. Kedua sel haploid dan diploid membagi pada proses awal,

meskipun ada perbedaan halus dalam pilihan situs pembelahan munculnya antara haploid dan diploid. Selain itu, beberapa sel diploid juga dapat memodifikasi koordinasi dari siklus sel dan pertumbuhan terpolarisasi untuk beralih ke pseudohyphal (menyerupai hifa) sebuah modus pertumbuhan (Kavanagh, 2005).

Dalam pola pertumbuhan ini sel-sel individual yang lebih memanjang, dan pola pembelahan mengarah pada pembentukan rantai sel lebih kompak dari pada karakteristik koloni awal. Analisis genetik sangat berkembang pada *S. cerevisiae*. Ketika secara vegetatif tumbuh sel haploid dari jenis kawin berlawanan dibawa lebih dekat, mereka berkomunikasi satu sama lain dengan feromon diffusible, sinkronisasi siklus sel mereka, konjugat dan kemudian inti mereka melebur yang memperlihatkan tidak adanya proses perkawinan. Diploid ini dapat dikenali secara visual dalam bentuk zigot awal mereka, dan dipisahkan dari haploid oleh mikromanipulasi, atau diidentifikasi secara selektif karena mengandung pola sifat genetik yang tidak dimiliki oleh salah satu haploid induk (Kavanagh, 2005).

### **Faktor yang Berpengaruh Terhadap Pertumbuhan *S. cerevisiae***

Berbagai faktor yang mempengaruhi kehidupan khamir *S. cerevisiae* adalah:

#### **1. Nutrisi**

Dalam kegiatannya khamir memerlukan penambahan nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, yaitu unsur C misal karbohidrat, unsur N, dengan penambahan pupuk yang mengandung nitrogen, misal ZA, urea, ammonia, dan sebagainya, unsur P dengan penambahan pupuk fosfat, misal NPK, TSP, dan sebagainya, mineral, vitamin (Nurhidayat *et al.*, 2006).

#### **2. Suhu**

*S. cerevisiae* mempunyai suhu optimal untuk pertumbuhan mikroba. Suhu dibawah minimal dan diatas maksimal dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga tidak dapat tumbuh. Sebagian besar *S. cerevisiae* umumnya tumbuh baik pada kisaran suhu 25-46°C (Fosith dan Quesnel, 1963).

#### **3. pH**

Selama proses fermentasi pH pertumbuhan ini berpengaruh pada laju pertumbuhan mikroorganisme. Perubahan pH media akan mempengaruhi permeabilitas sel dan sintesis enzim, oleh sebab itu perlu dilakukan upaya untuk



mempertahankan pH dan buffer. Nilai pH optimal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* adalah antara 4,8-5,0 (Fosith dan Quesnel, 1963).

#### 4. Udara

Fermentasi alkohol berlangsung secara anaerobik (tanpa udara). Udara diperlukan pada proses pembibitan sebelum fermentasi untuk perkembangbiakan khamir (Nurhidayat *et al.*, 2006).

### Macam-macam Media Pertumbuhan Khamir

Cara untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroorganisme diperlukan suatu substrat yang disebut media. Dikarenakan dengan media yang cocok, maka pertumbuhan mikroorganisme akan maksimal, subur dan cepat. Media biak dapat dibuat dari senyawa-senyawa tertentu. Media biak dapat dibagi menjadi 3 macam, yaitu:

1. Media biak sintetik, media ini dibuat dari senyawa-senyawa kimia.
2. Media biak kompleks, media ini dibuat dari senyawa yang mengandung ekstrak ragi, otolitas ragi, pepton, dan ekstrak daging.
3. Media biak padat, media ini dibuat dari larutan biak cair kemudian ditambahkan bahan pematat yang memberi konsistensi seperti selai pada larutan air.

Salah satu syarat untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah kadar ion hidrogen yang ada di lingkungannya. Perubahan kadar yang kecil saja sudah mampu menimbulkan pengaruh yang besar. alasan inilah yang amat penting untuk menggunakan nilai pH awal yang optimum dan mempertahankannya sepanjang pertumbuhan. Organisme hidup paling baik pada pH 7. Selain kadar ion hidrogen, dibutuhkan juga karbondioksida dan kadar air, suhu, dan tekanan osmatik. Pertumbuhan mikroorganisme tergantung dari bahan-bahan makanan. Pada dasarnya larutan biak sekurang-kurangnya harus mengandung sebagai berikut:

1. Kebutuhan nutrien pokok, yaitu karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, belerang, fosfat, kalium, magnesium, dan besi.
2. Sumber-sumber karbon dan energi.
3. Zat-zat pelengkap, yaitu suplemen yang termasuk komponen dasar dan yang oleh beberapa mikroorganisme tidak dapat disintesis dari komponen-komponen sederhana (Sutedjo, 1996).

Media itu sendiri sebelum dipergunakan harus dalam keadaan steril, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme lain yang tidak diharapkan. Susunan bahan, baik berbentuk bahan alami (Seperti taoge, kentang, daging, telur, wortel) ataupun bahan buatan (berbentuk senyawa kimia organik ataupun anorganik) yang dipergunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme dinamakan media. Secara garis besar media dibedakan berdasarkan konsentrasinya:

1. Media padat, terbagi media agar miring, agar deep dan agar sebar. Media ini umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur.
2. Media cair, jika media tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalga, bakteri dan ragi.
3. Media semi padat atau semi cair, jika penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang dari yang seharusnya. Ini umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerobik atau fakultatif (Sutedjo, 1996).

### **Perhitungan Kerapatan**

Mikroorganisme adalah mikroba atau organisme yang berukuran sangat kecil sehingga untuk mengamatinya diperlukan alat pembesar. Mikroorganisme seringkali bersel tunggal meskipun beberapa protista bersel tunggal masih dapat terlihat oleh mata telanjang dan ada beberapa spesies multisel yang tidak dapat terlihat oleh mata telanjang. Mikroorganisme biasanya dianggap mencakup semua prokariota, protista, dan alga renik. Perhitungan mikroba secara langsung menurut Dwidjoseputro (2005) antara lain:

1. *Plate Count* (hitungan cawan)

*Plate Count* atau *viable count* didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel mikroorganisme hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan lingkungan yang sesuai. Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroorganisme dalam suspensi tersebut.

2. Turbidimetri

Turbidimetri merupakan metode yang cepat untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan menggunakan spektrofotometer. Bakteri menyerap cahaya sebanding dengan volume total sel (ditentukan oleh ukuran dan jumlah). Ketika mikroba bertambah jumlahnya atau semakin besar ukurannya dalam

biakan cair, terjadi peningkatan kekeruhan dalam biakan. Kekeruhan dapat disebut *Optical Density* (OD) absorpsi cahaya, biasanya diukur pada panjang gelombang 520-700 nm. Untuk mikroba tertentu, kurva standar dapat memperlihatkan jumlah organisme/ml (ditentukan dengan metode hitungan cendawan) hingga pengukuran OD (ditentukan dengan spektrofotometer).

### 3. Hemasitometer

Hemasitometer adalah metode perhitungan secara mikroskopis. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm<sup>2</sup>. Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,05 mm. satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung tersebut sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui.

### Fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*

Proses biologi anaerobik merupakan salah satu sistem pengolahan air limbah dengan memanfaatkan mikroorganisme yang bekerja pada kondisi anaerob. Kumpulan mikroorganisme, terlibat dalam transformasi senyawa kompleks organik menjadi metana. Selebihnya terdapat interaksi sinergis antara bermacam-macam kelompok bakteri yang berperan dalam penguraian limbah. Kelompok bakteri non metanogen yang bertanggung jawab untuk proses hidrolisis dan fermentasi terdiri dari bakteri anaerob fakultatif dan obligat. Fermentasi adalah peruraian senyawa organik menjadi senyawa sederhana dengan bantuan mikroorganisme dalam kondisi anaerob sehingga menghasilkan energi (Fardiaz, 1987). Secara alami daging buah trembesi yang manis banyak dihuni mikroorganisme terutama dari golongan khamir termasuk khamir fermentatif; diantaranya adalah *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces kefir*, dan *Zygosaccharomyces* spp (Indratmi, 2012). Faktor yang dapat berpengaruh dalam fermentasi adalah lama fermentasi. Lama fermentasi dapat berpengaruh secara langsung dan tidak langsung. Lama fermentasi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu substrat, suhu, pH, oksigen, karbondioksida, dan mikroorganisme yang digunakan (Kunaepah, 2008).

Azizah *et al.* (2012) menyebutkan bahwa faktor-faktor yang dapat mempengaruhi lama fermentasi oleh khamir dijelaskan sebagai berikut.

#### 1. Substrat fermentasi

Substrat fermentasi menjadi bahan baku yang dibutuhkan dalam fermentasi. Substrat mengandung nutrisi-nutrisi untuk memacu pertumbuhan mikroba dan memacu mikroba untuk menghasilkan suatu produk. Karbohidrat menjadi sumber karbon utama bagi mikroba yang berfungsi sebagai penghasil energi, sedangkan nutrisi lain hanya dibutuhkan dalam jumlah sedikit yang salah satu contohnya yaitu protein.

Khamir membutuhkan glukosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Pemanfaatan suatu senyawa karbon menjadi salah satu penciri suatu genus khamir. Pemanfaatan glukosa oleh khamir akan menghasilkan produk samping berupa alkohol dan karbondioksida (Kurtzman *et al.*, 2011). Karbohidrat akan dikonversi menjadi gula dan dikonversi kembali menjadi alkohol dan karbondioksida dengan bantuan enzim. *S. cerevisiae* diketahui mampu mengonversi gula menjadi alkohol karena adanya enzim *invertase* dan *zymase*. Enzim *invertase* digunakan untuk menghidrolisis *disakarida* menjadi *monosakarida*. Enzim *zymase* digunakan untuk mengubah *monosakarida* menjadi alkohol dan karbondioksida. Alkohol yang dihasilkan dalam fermentasi hanya berasal dari glukosa.

## 2. Suhu

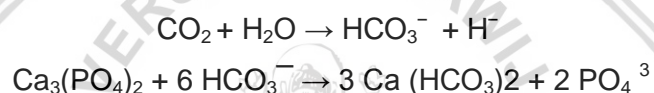
Pertumbuhan mikroba sangat dipengaruhi oleh suhu lingkungan fermentasi, sehingga suhu fermentasi secara tidak langsung dapat berpengaruh terhadap lama fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda-beda yang salah satunya dipengaruhi oleh suhu. *S. cerevisiae* memiliki kisaran suhu pertumbuhan antara 20-30°C, dan dapat tumbuh optimal pada suhu 30-35°C serta dapat memproduksi alkohol dalam jumlah optimal pada suhu 33°C (Fardiaz, 1992). Suhu yang terlalu rendah dapat berpengaruh pada lambatnya fermentasi, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat berpengaruh pada kematian *S. cerevisiae* sehingga fermentasi akan terhenti bahkan tidak berlangsung.

## 3. Derajat keasaman (pH)

pH suatu substrat yang digunakan akan berpengaruh pada pertumbuhan khamir yang nantinya akan berpengaruh pula pada produksi alkohol, sehingga pemilihan substrat dengan pH tertentu hendaknya perlu diperhatikan. Nilai pH dalam substrat fermentasi dapat dipengaruhi pula oleh produk samping yang dihasilkan suatu jenis mikroba. Khamir dalam melakukan fermentasi dapat

menghasilkan produk samping berupa alkohol dan karbondioksida. Karbondioksida merupakan hasil respirasi oleh sel khamir, sehingga perubahan pH pada substrat fermentasi dapat menjadi indikator adanya metabolisme sel (Kartohardjono *et al.*, 2007).

pH akan menurun dengan cepat pada awal dilakukan inkubasi dan perlahan akan menurun pada akhir inkubasi. Penurunan pH memicu terjadinya pelarutan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (*kalsium fosfat*) menjadi *orthofosfat*. Penurunan pH dapat dipicu adanya produksi asam organik seperti *sitrat*, *propionat*, dan *laktat* yang merupakan hasil metabolisme glukosa (Haryono *et al.*, 1998). Penurunan pH yang terjadi selama fermentasi bahan organik oleh khamir mengakibatkan adanya *fosfat* terlarut dalam substrat. Selain itu, karbondioksida yang terlarut dalam air juga akan berkontribusi dalam keasaman suatu media fermentasi. Hal ini dijelaskan oleh Tate (1984) dalam Kanti (2006) sebagai berikut:



#### 4. Oksigen dan Karbondioksida

Khamir tertentu dapat menghasilkan alkohol pada kondisi anaerob, sehingga oksigen sangat berpengaruh pada produk hasil fermentasi. *S. cerevisiae* diketahui dapat menghidrolisis gula menjadi alkohol dan karbondioksida jika dalam keadaan anaerob. Karbondioksida sebagai produk samping fermentasi oleh *S. cerevisiae* dapat dihasilkan lebih cepat apabila fermentasi berlangsung pada kondisi aerob. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak produksi karbondioksida yang dihasilkan, namun semakin sedikit alkohol yang diproduksi. Hal ini dikarenakan adanya gas karbondioksida selama fermentasi dapat menghentikan pertumbuhan khamir, namun khamir tetap masih dalam keadaan hidup. Khamir dapat menghasilkan alkohol kembali apabila karbondioksida dihilangkan. Oleh karena itu, oksigen dan karbondioksida dapat berpengaruh pada lama fermentasi.

#### 5. Jenis Mikroorganisme

Jenis mikroorganisme sangat berpengaruh pada fermentasi karena peranannya sebagai perombak bahan organik. Fermentasi alkohol umumnya menggunakan mikroorganisme golongan khamir karena kemampuannya yang dapat mengonversi gula menjadi alkohol dengan adanya enzim *zymase*. Jenis khamir yang berbeda akan berpengaruh pada produk hasil fermentasi yang



berbeda pula. Hal ini juga dipengaruhi oleh waktu yang dibutuhkan suatu khamir dalam menghasilkan suatu produk. *S. cerevisiae* dapat mengonversi gula lebih cepat dari pada *Kluyveromyces fragilis*. *S. cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol hingga 2% dalam waktu 72 jam, sedangkan *K. fragilis* membutuhkan waktu hingga 1 minggu untuk dapat memproduksi alkohol hingga 2%. *S. cerevisiae* lebih banyak menggunakan glukosa sebagai sumber karbonnya dibandingkan dengan galaktosa (Rubio *et al.*, 2005).

Fase pertumbuhan mikroba yang berlangsung dalam fermentasi dibagi menjadi empat tahap yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan cepat, fase *stasioner*, dan fase kematian. Fase adaptasi yaitu fase yang menunjukkan mikroba beradaptasi dengan lingkungan tumbuhnya dan belum terjadi pertumbuhan. Fase adaptasi pada kurva digambarkan dengan garis kurva yang menunjukkan angka nol dan kemudian sedikit ada kenaikan. Fase pertumbuhan cepat ditunjukkan dengan kondisi mikroba yang mengalami pertumbuhan sangat cepat karena terjadi pemecahan gula dalam jumlah banyak untuk memenuhi kebutuhan mikroba dalam pertumbuhannya. Proses pemecahan gula oleh khamir dalam keadaan anaerob akan menghasilkan produk berupa alkohol dan pada fase pertumbuhan cepat inilah alkohol diproduksi dalam jumlah tinggi. Fase *stasioner* ditunjukkan dengan jumlah mikroba yang mati sebanding dengan jumlah mikroba yang hidup dan digambarkan dengan garis yang mendatar pada kurva. Fase kematian ditunjukkan dengan peningkatan jumlah mikroba yang mati dan digambarkan oleh garis yang menurun pada kurva (Nakase *et al.*, 1998).

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme penghasil amilase yang cukup berpotensi, selain bakteri dan kapang. Enzim amilase diproduksi di luar sel oleh beberapa jenis yeast *Saccharomycopsis fibuliger*, *S. diaticus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schwaniomyces occidentalis*, dan *Candida* serta *Pichia* (De Mot, 1990). *S. fibuliger* merupakan khamir amilolitik penghasil  $\alpha$ -amilase, glukamilase dan  $\alpha$ -glukosidase yang mampu merombak zat pati, tetapi karena *S. fibuliger* masih tergolong dalam khamir pembawa penyakit (Hostinova, 2002). Khamir amilolitik mempunyai potensi penting dalam produk-produk berbahan pati (Rose dan Harrison, 1993), karena aktivitas enzim amilase terutama isoamilase dapat menghidrolisa ikatan  $\alpha(1,6)$  pada amilopektin (Van der Maarel *dkk*, 2002). Selain itu khamir amilolitik berperan dalam memproduksi etanol dan biomassa khamir berasal dari bahan yang mengandung zat pati dan

fermentasi beras untuk memproduksi minuman dan makanan berkarbohidrat rendah (McCann dan Barnett, 1986), serta produksi amilase oleh khamir selama fermentasi tape ketan (Ardhana dan Fleet, 1989; De Mot, 1990).

### **Peranan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Pengendali Hayati**

Mikroba bermanfaat dalam meningkatkan ketahanan/kesehatan tanaman yang banyak diteliti adalah kelompok khamir fruktoplan (*yeast and yeast like fungi*) sebagai penghambat perkembangan patogen yang menyerang bagian buah tanaman atau sebagai bioprotektan. Penelitian-penelitian terbaru mengungkapkan spesies-spesies lain yang terdapat ragi tape antara lain, khamir *Candida utilis*, dan *Saccharomyces cerevisiae* (Gandjar, 2003). Beberapa khamir fruktoplan merupakan agensia pengendali hayati yang potensial dapat menekan patogen penyebab penyakit yang menyerang buah di lapang. Khamir fruktoplan tersebut diantaranya adalah khamir merah *Rhodotorula* sp., khamir putih *Debaryomyces* sp, dan khamir hitam *Schizosacchaormyces* sp. Khamir merupakan salah satu mikroorganisme antagonis (Kumar *et al.*, 2007). Beberapa publikasi melaporkan bahwa khamir filum Ascomycota memiliki kemampuan antagonis. Menurut El-Tarabily dan Sivasithamparam (2006) khamir Ascomycota yang memiliki kemampuan antagonisme antara lain, khamir genus *Aureobasidium*, *Candida*, *Saccharomyces*, dan *Pichia*. Khamir antagonis dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan fungi patogen (Pimenta *dkk*, 2009).

Berdasarkan penelitian Hartati *et al.* (2014) menyatakan bahwa beberapa antagonis mikroorganisme telah dilaporkan efektif dalam mengendalikan penyakit antraknose pada cabai, antara lain *Trichoderma harzianum* dan *Pseudomonas fluorescens*. Baru-baru ini, ragi juga dilaporkan efektif dalam mengendalikan penyakit ini. Beberapa spesies ragi seperti *Pichia guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenkia orientalis* dan *Candida quercitrusa* mampu menekan penyakit antraknose pada buah cabai yang disebabkan oleh *C. capsici*. Khamir *Candida valida*, *Rhodoturula glutinis* dan *Trichosporon asahii* dari rizosfer gula bit mampu mengkolonisasi perakaran gula bit, memacu pertumbuhan gula bit, dan melindungi tanaman pada fase bibit maupun dewasa terhadap serangan penyakit damping off dan busuk akar yang disebabkan oleh patogen *Rhizoctonia solani*. Hasil ini menunjukkan bahwa khamir berpotensi dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati patogen tanaman sekaligus sebagai biofertilizer (El-Terabily, 2004).

Menurut Janisiewicz (2010) mengatakan bahwa mikroba penghuni buah merupakan suber agensia pengendali hayati terhadap patogen perusak buah pascapanen dan sudah dipasarkan sebagai produk biokontrol komersial terutama untuk tanaman anggur dan apel. Khamir *Rhodoturula* spp., *Cryptococcus magnus*, *Cryptococcus* sp., *Sporidiobolus pararoseus*, *Pichia* spp., *Candida* spp., dan yeast like fungi *Aureobasidium pullulans* menunjukkan sifat penghambatan yang signifikan terhadap penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *Monilinia fructicola*.

### Limbah Air Tahu

Tahu adalah salah satu makanan tradisional yang biasa dikonsumsi setiap hari oleh orang Indonesia, yang digemari hampir seluruh lapisan masyarakat. Selain mengandung gizi yang baik, pembuatan tahu juga relatif murah dan sederhana, rasanya enak serta harganya terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat. Saat ini, usaha tahu di Indonesia rata-rata masih dilakukan dengan teknologi yang sederhana, sehingga tingkat efisiensi penggunaan sumber daya (air dan bahan baku) dirasakan masih rendah dan tingkat produksi limbahnya juga relatif tinggi. Limbah industri tahu pada umumnya dibagi menjadi dua bentuk limbah, yaitu limbah padat dan limbah cair (Gambar 5). Limbah padat pabrik pengolahan tahu berupa kotoran hasil pembersihan kedelai (batu, tanah, kulit kedelai, dan benda padat lain yang menempel pada kedelai) dan sisa saringan bubur kedelai yang disebut dengan ampas tahu. Limbah ini kebanyakan oleh pengrajin dijual dan diolah menjadi tempe gembus, kerupuk ampas tahu, pakan ternak, dan diolah menjadi tepung ampas tahu yang akan dijadikan bahan dasar pembuatan roti kering dan cake.



Gambar 3. Limbah tahu. a: Limbah cair tahu, b: Ampas tahu (Rossiana, 2006)



Sebagian besar limbah cair yang dihasilkan oleh industri pembuatan tahu adalah cairan kental yang terpisah dari gumpalan tahu yang disebut dengan air dadih (*whey*). Cairan ini mengandung kadar protein yang tinggi dan dapat segera terurai. Limbah ini sering dibuang secara langsung tanpa pengolahan terlebih dahulu sehingga menghasilkan bau busuk dan mencemari lingkungan. Sehingga industri tahu memerlukan suatu pengolahan limbah yang bertujuan untuk mengurangi resiko beban pencemaran yang ada. Menurut Lisnasari (1995) jumlah kebutuhan air proses dan jumlah limbah cair yang dihasilkan dilaporkan berturut-turut sebesar 43,5-45 liter untuk tiap kilogram bahan baku kacang kedelai. Teknologi pengolahan limbah tahu dapat dilakukan dengan proses biologis sistem anaerob, aerob dan kombinasi anaerob-aerob. Teknologi pengolahan limbah tahu yang ada saat ini pada umumnya berupa pengolahan limbah dengan sistem anaerob. Dengan proses biologis anaerob, efisiensi pengolahan sekitar 70%-80%, sehingga airnya masih mengandung kadar pencemar organik cukup tinggi, serta bau yang masih ditimbulkan sehingga hal ini menyebabkan masalah tersendiri (Herlambang, 2002).

\ Suhu limbah air tahu pada umumnya lebih tinggi dari air bakunya, yaitu 40-46 °C. Bahan-bahan organik yang terkandung di dalam buangan industri tahu pada umumnya sangat tinggi. Senyawa-senyawa organik di dalam air buangan tersebut dapat berupa protein, karbohidrat dan lemak. Protein mencapai 40-60%, karbohidrat 25-50% dan lemak 10%. Air buangan industri tahu kualitasnya bergantung dari proses yang digunakan. Apabila air prosesnya baik, maka kandungan bahan organik pada air buangannya biasanya rendah. Komponen terbesar dari limbah air tahu yaitu protein (N-total) sebesar 226,06-434,78 mg/Lt, sehingga masuknya limbah air tahu ke lingkungan perairan akan meningkatkan total nitrogen di perairan tersebut (Herlambang, 2002).

Tabel 1. Kandungan limbah air tahu

Senyawa	Kadar (mg/L)
Pb	0,24
Ca	34,1
Fe	0,19
Cu	0,12
Na	0,59

Sumber: Lisnasari (1995)

Limbah tahu mengandung N, P, K, Ca, Mg, dan C organik yang berpotensi untuk meningkatkan kesuburan tanah. Dalam limbah cair ampas tahu terdapat bahan-bahan organik seperti nitrogen (N) untuk pertumbuhan tunas, batang dan daun; fosfor (P) untuk merangsang pertumbuhan akar, buah dan biji; dan kalium (K) untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan hama penyakit yang dibutuhkan tanaman (Makiyah, 2013).

Menurut Triyanto (2008) bahwa penyimpanan limbah air tahu mempunyai peranan yang baik terhadap komposisi unsur hara karena pada proses penyimpanan ini terjadi proses dekomposisi yang menyebabkan mikroorganisme yang hidup dalam limbah air tahu dapat berkembang. Dekomposisi zat organik dalam lingkungan anaerobik hanya dapat dilakukan oleh mikroorganisme yang dapat menggunakan molekul selain oksigen sebagai akseptor hidrogen.

### **Limbah Air Cucian Beras**

Beras menempati urutan pertama dalam konsumsi pangan sehari-hari bagi sebagian besar penduduk Indonesia, maka bangsa Indonesia sangat potensial untuk dapat memanfaatkan beras, terutama limbahnya yang berupa air cucian beras atau sering disebut sebagai air leri (Bahasa Jawa) berwarna putih susu yang jumlahnya sangat melimpah (Gambar 6), mudah didapat serta masih mengandung zat yang bermanfaat bagi manusia dan limbah ini belum banyak dimanfaatkan. Beras mengalami proses pencucian sebelum dimasak. Beras merupakan hasil pengolahan padi, bagian terbesar beras didominasi oleh pati (sekitar 80-85%). Pati beras tersusun dari dua polimer karbohidrat yaitu amilosa, pati dengan struktur tidak bercabang. Sedangkan amilopektin, pati dengan struktur bercabang dan cenderung bersifat lengket (Rahman, 1992).

Di sektor pertanian air limbah bekas cucian beras bisa digunakan sebagai penyubur tanaman, air beras membentuk proses terbentuknya hormon tumbuh berupa auksin, gibelriline, dan alanin yang bertugas merangsang pertumbuhan pucuk daun dan mengangkut sel-sel terpenting daun dan batang. Fungsi fitonutrien untuk menjaga tanaman dari lingkungan sekitar, seperti pemangsa, virus, bakteri, dan jamur. Pada proses pengolahan beras biasanya dicuci berulang kali hingga dianggap bersih. Air cucian tersebut biasanya akan langsung dibuang karena dianggap tidak memiliki nilai apapun, namun sebenarnya air cucian tersebut masih mengandung karbohidrat, protein, dan

vitamin B (Moehyi, 1992). Vitamin sangat berperan dalam proses pembentukan hormon dan berfungsi sebagai koenzim.

Tabel 2. Kandungan air cucian beras

Unsur	Kandungan (%)
Nitrogen	0,015
Fosfor	16,306
Kalium	0,02
Kalsium	2,944
Magnesium	14,252
Besi	0,042
Vitamin B1	0,043

Sumber: Fibria (2007)

Kandungan nutrisi beras yang tertinggi terdapat pada bagian kulit ari. Komponen yang terkandung dalam air cucian beras berupa karbohidrat, protein, vitamin, 100% serat, asam lemak esensial, dan mineral lainnya. Dari kandungan karbohidrat dalam air cucian beras, maka dapat dihidrolisa untuk menghasilkan glukosa. Glukosa kemudian difermentasi secara anaerob menjadi bioetanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Angelina *et al.* (2013) bioetanol yang dihasilkan oleh air cucian beras mempunyai kadar sebesar 42%. Kadar ini merupakan kadar bioetanol setelah destilasi. Namun ada beberapa kendala yang harus dihadapi agar bioetanol dapat digunakan oleh masyarakat secara luas.



Gambar 4. Air Leri (Rahman, 1992)

### Limbah Air Kelapa

Tanaman kelapa banyak terdapat di daerah beriklim tropis. Kelapa diperkirakan dapat ditemukan di lebih dari 80 negara. Indonesia merupakan negara agraris yang menempati posisi ketiga setelah Filipina dan India, sebagai penghasil kelapa terbesar di dunia (APCC, 2002). Air kelapa merupakan salah satu produk dari tanaman kelapa yang belum banyak dimanfaatkan, karena pemanfaatannya belum banyak diketahui oleh masyarakat maka sering kali air kelapa ini dibuang begitu saja bersama limbah rumah tangga lainnya. Fardiaz (2002) menyatakan bahwa di Indonesia air kelapa tersedia dalam jumlah besar, yaitu 900 juta liter per tahun, merupakan potensi yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Air kelapa masih merupakan limbah dan beresiko mencemari lingkungan.

Pertumbuhan jaringan lebih baik dengan penambahan air kelapa 15% pada kultur *Daucus carota* dalam media kultur jaringan. Selain pada kultur *Daucus carota* penambahan air kelapa 10-20% menunjukkan pertumbuhan lebih baik pada kultur bibit kisan, dan penambahan air kelapa 20% pada kultur pisang tanduk. Hal ini menunjukkan bahwa pada air kelapa mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh sel untuk mempercepat pertumbuhannya.

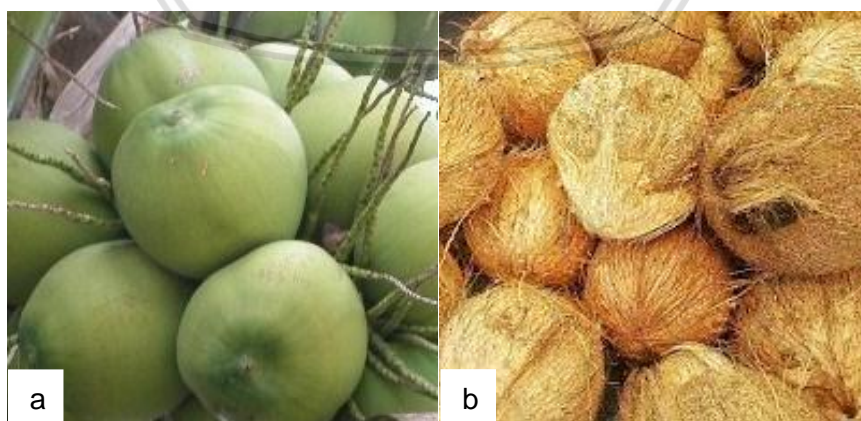
Tabel 3. Komposisi buah kelapa segar pada 3 tingkatan umur

No.	Komposisi per 100 g bahan	Satuan	Umur Buah	
			Muda	Tua
1.	Kalori	Kal	68,0	359,0
2.	Protein	Gr	1,0	3,4
3.	Lemak	Gr	0,9	34,7
4.	Karbohidrat	Gr	14,0	14,0
5.	Kalsium	Mg	7,0	21,0
6.	Fosfor	Mg	30,0	98,0
7.	Besi	Mg	1,0	2,0
8.	Vitamin A	SI	0,0	0,0
9.	Vitamin B	Mg	0,06	0,1
10.	Vitamin C	Mg	4,0	2,0
11.	Air	Gr	83,0	46,9

Sumber: Direktorat Gizi Depkes RI (1981)

Komposisi kandungan zat kimia yang terdapat pada air kelapa antara lain asam askorbat atau vitamin C, protein, lemak, hidrat arang, kalsium atau potassium. Mineral yang terkandung pada air kelapa ialah zat besi, fosfor dan gula yang terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa. Kadar air yang terdapat pada buah kelapa sejumlah 95,5 gram dari setiap 100 gram (Direktorat Gizi Depkes RI, 1981).

Pemanfaatan air kelapa dibidang mikrobiologi sebenarnya sudah tidak asing lagi karena air kelapa digunakan pada pembuatan nata de coco. Air kelapa sendiri merupakan media yang baik dalam pengembangbiakan bakteri karena mengandung kandungan glukosa yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh. Bakteri *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh dan berkembang membentuk nata (krim) karena adanya kandungan yang dimiliki oleh air kelapa berupa air, karbohidrat, protein, lemak serta nutrisi berupa sukrosa, fruktosa, dan vitamin. Nutrisi tersebut merangsang pertumbuhan *Acetobacter xylinum* melalui proses fermentasi untuk membentuk gel pada permukaan larutan yang mengandung gula (nata de coco). Menurut Widyastuti (1997) menyatakan bahwa air kelapa mengandung asam amino, asam organik, vitamin dan gula. Lebih dari setengah bagiannya adalah sukrosa dan sisanya adalah glukosa dan fruktosa. Gula alkohol yang terkandung di dalamnya adalah monitol, sorbitol, m-inositol. Dalam media pertumbuhan khamir, gula perlu ditambahkan karena jamur ini akan tumbuh subur pada habitat yang mengandung gula. Melihat zat-zat yang terkandung di dalam air kelapa maka air kelapa sangat cocok digunakan sebagai media untuk pertumbuhan khamir.



Gambar 5. Kelapa. a: Kelapa muda, b: Kelapa tua (Palungkun, 2004)

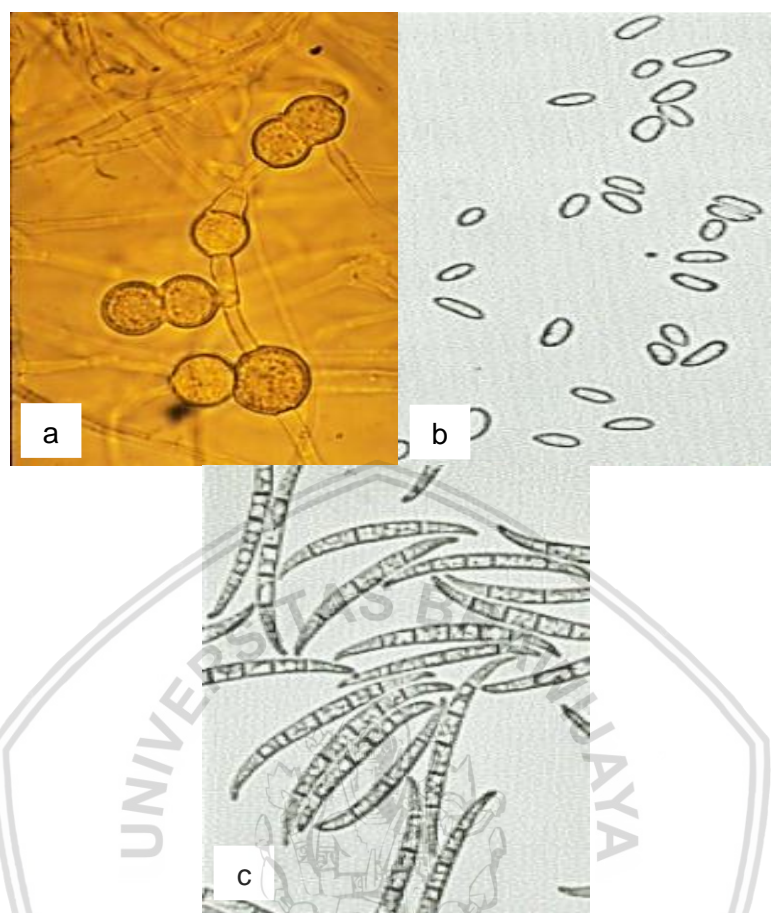


### ***Fusarium* sp.**

#### **Morfologi *Fusarium* sp.**

*Fusarium* sp. membentuk konidium pada suatu badan yang disebut sporodokium yang dibentuk pada permukaan tangkai atau daun sakit pada tangkai yang telah tua. Konidiofor bercabang dan rata-rata mempunyai panjang 70  $\mu\text{m}$ , cabang-cabang samping biasanya bersel satu, panjang sampai 14  $\mu\text{m}$ , konidium terbentuk pada ujung cabang utama dan pada cabang samping. Mikrokonidium bersel satu atau dua, hialin, jorong atau agak memanjang, berukuran 5-7 x 2,5-3  $\mu\text{m}$ . Makrokonidium berbentuk sabit, bertangkai kecil, kebanyakan bersel 4, berukuran 22-36 x 4-5  $\mu\text{m}$ . Klamidospora bersel satu, jorong atau bulat, berukuran 7-13 x 7-8  $\mu\text{m}$ , terbentuk di tengah hifa atau pada makrokonidium dan seringkali berpasangan (Semangun, 1994). Mikrokonidium banyak dijumpai di dalam jaringan tanaman yang terinfeksi, sedangkan makrokonidium umumnya banyak dijumpai di permukaan tanaman yang mati karena infeksi *Fusarium* sp. (Agrios, 1996).

Menurut Sastrahidayat (1990), klamidospora dihasilkan apabila keadaan lingkungan tidak sesuai bagi patogen dan berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup patogen. Konidiana biasanya mempunyai 3-5 septa dan sel apikal yang tipis serta sel dasarnya yang berbentuk kaki. Klamidosporanya dapat berbentuk tunggal atau berpasangan (Ploetz, 1994). Cendawan ini tumbuh dari spora dengan struktur yang menyerupai benang, ada yang mempunyai dinding pemisah dan ada yang tidak. Benang secara individu disebut hifa, dan massa benang yang luas disebut miselium. Miselium adalah struktur yang berpengaruh dalam absorpsi nutrisi secara terus-menerus sehingga cendawan dapat tumbuh dan pada akhirnya menghasilkan hifa yang khusus menghasilkan spora reproduktif (Foth, 1991; Saragih 2009). Cendawan *Fusarium* sp dapat tumbuh dengan baik pada bermacam-macam media agar yang mengandung ekstrak sayuran. Mula-mula miselium tidak berwarna, semakin tua warnanya semakin krem, akhirnya koloni tampak mempunyai benang. Koloni fungi yang ditumbuhkan pada media ADK (Agar Dekstrose kentang) berwarna abu-abu, coklat, violet atau putih. Sedangkan pada media ADK yang ditambahkan ekstrak sayur-sayuran, koloni mula-mula tidak berwarna, semakin tua menjadi krem, akhirnya koloni tampak mempunyai benang berwarna merah muda agak ungu (Semangun, 1996).



Gambar 6. Morfologi *Fusarium* sp. secara mikroskopis. a: Klamidospora, b: Mikrospora, c: Makrospora) (Klotz *et al.*, 1988)

#### Siklus Hidup *Fusarium* sp.

Penyakit ini terutama menular karena perakaran tanaman sehat berhubungan dengan spora yang dilepaskan oleh tanaman sakit di dekatnya (Semangun, 1994). Selain itu penularan dapat juga terjadi melalui bibit, tanah yang terinfeksi, tanah yang melekat pada alat-alat pertanian, perendaman tanah, aliran air pada permukaan tanah serta sisa-sisa tanaman sakit (Muharam *et al.*, 1992). Di dalam tanah yang terinfeksi, jamur bertahan dalam bentuk miselium atau dalam semua bentuk konidiumnya (Sastrahidayat, 1990). Penyakit menyebar cepat pada tanah-tanah bertekstur ringan atau berpasir yang memiliki drainase jelek dan masam (Muharam *et al.*, 1992). *Fusarium* sp. hidup sebagai parasit dan saprofit pada berbagai tanaman terutama pada bagian pembuluhnya, sehingga tanaman menjadi mati karena toksin (Sastrahidayat, 1990). *Fusarium* sp. termasuk cendawan yang bersifat *soil-borne* yang dapat bertahan hidup lebih lama di dalam tanah dalam bentuk klamidiospora sampai adanya rangsangan

untuk berkecambah yang berasal dari jaringan tanaman segar yang belum terkolonisasi cendawan patogen atau ekskresi akar (Semangun, 1994). Cendawan penyebab penyakit ini masuk ke dalam akar melalui lubang-lubang alami atau luka, lambat laun masuk ke bonggol. Miselium terutama terdapat di dalam sel khususnya di dalam pembuluh, juga membentuk miselium yang terdapat di antara sel-sel, yaitu di dalam kulit dan di jaringan parenkim di dekat terjadinya infeksi. Miselium yang telah menginfeksi pembuluh xylem, akan terbawa ke bagian lain tanaman sehingga mengganggu peredaran nutrisi dan air pada tanaman yang menyebabkan tanaman menjadi layu (Semangun, 2004). Patogen berkembang sangat cepat menuju batang sampai ke jaringan pembuluh sebelum masuk ke batang semu atau palsu. Pada tingkat infeksi lanjut miselium akan meluas dari jaringan pembuluh ke parenkim, selanjutnya patogen membentuk konidia dalam jaringan tanaman dan mikrokonidia dapat terangkut melalui xylem dalam arus transpirasi (Muharam *et al.*, 1992).

Di dalam pembuluh xylem tersebut jamur membebaskan polyphenol. Polyphenol ini dioksidasi oleh enzim polyphenoloxydase menjadi quinon yang segera mengadakan polimerasi menjadi melanin yang berwarna sawo matang. Dan inilah yang menyebabkan perubahan warna di dalam pembuluh-pembuluh xylem dari tanaman yang terinfeksi. Kegiatan aktivitas polyphenoloxydase tergantung pada jumlah miselium di dalam pembuluh xylem dari batang yang terinfeksi. Stadium terakhir merupakan stadium yang tahan pada segala cuaca. Cendawan menginfeksi akar terutama melalui luka, menetap dan berkembang di berkas pembuluh. Setelah jaringan pembuluh mati dan keadaan udara lembab, cendawan membentuk spora yang berwarna putih keunguan pada akar yang terinfeksi. Penyebaran spora dapat terjadi melalui angin, air pengairan dan alat pertanian. Bila tanaman mati, maka patogen akan mengadakan sporulasi secara luas pada jaringan yang mati tersebut dan ini merupakan sumber inokulum kedua (Sastrahidayat, 1990).

#### **Faktor-Faktor Pertumbuhan *Fusarium* sp.**

Beberapa hal menjadi faktor yang mendukung perkembangan penyakit layu sistem pembuluh yang khas ini. Faktor-faktor tersebut adalah temperatur, kelembaban tanah yang rendah, panjang hari yang pendek, intensitas cahaya yang rendah, nutrisi N dan P yang rendah, nutrisi K yang tinggi dan pH yang rendah (Booth, 1985). Penyakit *Fusarium* sp. membutuhkan kelembapan yang



tinggi antara 60-90% dan intensitas penyinaran yang rendah adalah kondisi optimum bagi perkembangan penyakit. *Fusarium* sp. suhu optimum untuk tumbuhnya adalah 27-25°C. Pada suhu kurang dari 16°C dan lebih dari 34°C gejala penyakit lebih hebat (Bruehl, 1987). Sporulasi optimal terjadi pada suhu 20-25°C dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Jamur ini mudah diisolasi dan dapat tumbuh tanpa O<sub>2</sub>, toleran terhadap konsentrasi CO<sub>2</sub>. Pada media agar kentang dengan suhu ruangan 29°C pada hari ketujuh pertumbuhan koloni jamur telah memenuhi petridish yang berdiameter 9 cm (Hadi, 1978).

Jamur *Fusarium* sp. dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama dalam bentuk klamidospora, daya tahan untuk bertahan hidup ini disebut viabilitas. Viabilitas jamur dalam kultur makanan dipengaruhi oleh suhu, pH, kelembapan. Kemungkinan faktor-faktor tersebut berpengaruh terhadap protoplasma. Viabilitas ini dapat diperpanjang dengan penambahan minyak mineral ke dalam media biakan. Hilangnya viabilitas tidak sama dengan hilangnya infektivitas, kadang-kadang hilangnya infektivitas dari suatu populasi spora jamur terjadi sebelum adanya perubahan visibilitas. Selain faktor-faktor iklim tersebut di atas, viabilitas juga dapat hilang karena adanya zat antibiotik di dalam media tumbuh jamur (Hadi, 1978). Daya tahan hidup juga dapat hilang karena adanya zat antibiotik baik yang dihasilkan mikroorganisme maupun oleh tumbuhan tingkat tinggi. Jamur membutuhkan karbon dan nitrogen untuk perkecambahan klamidosporanya (Bruehl, 1987).

### Pengendalian Hayati

Pengendalian hayati adalah pengurangan jumlah inokulum dalam keadaan aktif maupun dorman atau aktivitas patogen sebagai parasit oleh satu atau lebih organisme yang berlangsung secara alami atau melalui manipulasi lingkungan, inang atau agens antagonis dengan introduksi secara massal satu atau lebih organisme antagonis. Pengendalian hayati memiliki arti yang penting karena memiliki beberapa keunggulan antara lain biayanya murah, aman terhadap pekerja, konsumen produk pertanian dan lingkungan serta mempunyai efek pengendalian yang berkelanjutan (Campbell, 1989). Penggunaan agensia pengendali hayati di dalam mengendalikan patogen tanaman telah banyak dilakukan. Setiap pengendali hayati yang ditemukan selalu mempunyai mekanisme penghambatan yang tidak sama dengan agensia pengendali hayati lainnya. Mekanisme penghambatan agensia pengendali hayati adalah cara kerja

agensia pengendali hayati di dalam mengendalikan patogen tanaman. Cara kerja yang dilakukan oleh agensia tersebut biasanya menggunakan hasil metabolisme sekunder, baik berupa antibiotik, toksin, enzim, atau hormon, serta tanpa melibatkan hasil metabolit sekunder tersebut misalnya parasitisme (Baker & Cook, 1983).

Penggunaan khamir sebagai agens pengendalian hayati memiliki beberapa kelebihan, yaitu khamir mudah diperbanyak dalam waktu singkat, tidak menghasilkan toksin, mampu mengkolonisasi dan bertahan pada permukaan buah dalam waktu yang cukup lama pada berbagai kondisi (Hashem dan Alamri, 2009). Menurut El Ghaouth *et al.* (2003) menyatakan bahwa khamir *S. cerevisiae* mampu menghasilkan etanol, enzim  $\beta$ -1,3-glukanase, kitinase, peroxidase, ethyl acetate, senyawa volatile yang bersifat anti jamur, toksin dan antibiotik. Khamir antagonis memiliki mekanisme antagonis dalam menghambat pertumbuhan patogen yaitu kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, parasitisme dan predasi (Pimenta *et al.*, 2009). Beberapa spesies khamir telah dilaporkan dapat mengendalikan beberapa patogen pada berbagai komoditas hortikultura diantaranya yaitu sayur-mayur dan buah-buahan (Mari & Guizzardi, 1998). Mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi merupakan mekanisme yang dilakukan oleh khamir dalam mendominasi karena pertumbuhan khamir yang lebih cepat menyebabkan populasi meningkat, sehingga nutrisi yang tersedia di lingkungan digunakan untuk menunjang pertumbuhan khamir. Dalam kompetisi ruang, khamir *S. cerevisiae* dibantu oleh kapsul yang membentuk polisakarida ekstra seluler yang digunakan untuk melekat pada bagian permukaan tanaman. Keberhasilan kompetisi ditunjukkan melalui pertumbuhan sel serta kolonisasi khamir antagonis yang lebih cepat atau sejumlah molekul organik hasil metabolisme khamir yang lebih banyak dibandingkan jamur patogen (Morrica & Ragazzi, 2008).

Antibiosis merupakan mekanisme antagonisme yang dilakukan oleh khamir dengan menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Madigan *et al.*, 2012). Beberapa senyawa tersebut adalah enzim litik, senyawa volatile, siderofor, serta *killer toxin*. Kemampuan khamir dalam menekan kejadian penyakit diduga karena khamir mampu menghasilkan enzim yang berpotensi menghambat, menekan dan mampu merangsang beberapa jenis respon

pertahanan inang. Enzim tersebut mampu mendegradasi dinding sel patogen (Haggag & Mohamed, 2007).

Parasitisme terjadi ketika khamir memperoleh nutrisi dari sel jamur yang digunakan untuk menunjang pertumbuhan khamir (Barton & Northup, 2011). Mekanisme parasitisme terjadi melalui kontak langsung antara sel khamir dengan jamur. Sel khamir memanfaatkan jamur sebagai inang yang merupakan habitat dan sumber nutrisi untuk melakukan pertumbuhan (Sharma, 2009).

Predasi merupakan mekanisme khamir dalam memangsa mikroorganisme lain sebagai sumber makanan (Barton & Northup, 2011). Mekanisme predasi terjadi melalui kontak langsung atau melalui struktur hifa atau spora sehingga mengganggu viabilitas jamur patogen (Morrica & Ragazzi, 2008).



### III. METODOLOGI

#### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2018, bertempat di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Isolat khamir didapatkan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Sampel cabai yang bergejala Layu Fusarium didapatkan di Kebun Karang Ploso, Malang.

#### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi nampan plastik, baskom, pisau, gunting, penggaris, kompor Oxone, panci, cawan petri, botol media *Duran Schott*, botol selai, gelas ukur *Pyrex*, tabung Erlenmeyer *Duran Schott*, beaker glass *Duran Schott*, object glass, cover glass *Sail Brand Microscope slides 23 Cat No. 7101*, *Orbital shaker Protech*, pipet tetes, mikropipet Vit Lab 100 $\mu$ L, jarum ose, stik L, timbangan *Ohaus Gent-0-gram balance 311 g*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pinset, spatula, bunsen, korek api, mikroskop *Olympus BX 41* kamera OP 26, autoklaf *Hirayama*, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), spektrofotometer UV-VIS, pH meter *Trans Instrumen TI 900 Walk Lab a microcomputer technology*, termometer, *handsprayer* dan kamera digital.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ragi, biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*, limbah air tahu, air leri, air kelapa, buah cabai yang bergejala *Fusarium sp.*, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media YEPD (*Yeast Extract Peptone Dextrose*), akuades steril, antibiotik (*chloramphenicol*), kloroks, alkohol 70%, air, spirtus, korek api, kertas label, kapas, tisu, kantong plastik, *alumunium foil*, dan *plastic wrap*.

#### Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode eksperimental yang terdiri dari 2 tahap, yakni tahapan pertama dilaksanakan dengan pembiakan khamir pada 4 media, yaitu YEPD cair (kontrol), limbah air tahu, air leri, dan air kelapa dengan 3 kali ulangan. Data-data yang diperoleh dari tahap ini adalah

jumlah populasi khamir, pH, dan suhu. Pengujian disusun menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) *one way* pada excel.

Pada tahap kedua dilakukan pengujian antagonis hasil perbanyakan khamir dengan *Fusarium* sp. secara *in vitro*. Data-data yang diperoleh adalah taraf hambatan relatif *Fusarium* sp. setelah isolat khamir diinokulasi.

### **Persiapan Penelitian**

#### **Sterilisasi Alat**

Sterilisasi alat menggunakan sterilisasi basah dan kering. Sterilisasi basah menggunakan alkohol 70% dan kloroks sedangkan sterilisasi kering menggunakan autoklaf dan oven. Alat-alat yang tahan pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit disterilisasi menggunakan autoklaf, sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas disterilisasi menggunakan kloroks, alkohol 70%, dan akuades (Fardiaz, 1992).

#### **Penyiapan Media untuk Pertumbuhan Khamir**

Media untuk pertumbuhan khamir *S. cerevisiae* menggunakan media YEPD (*Yeast Extract Peptone Dextrose*). Untuk membuat 1000 mL media YEPD diperlukan ekstrak yeast 5 gr, peptone 10 gr, dextrose 20 gr, agar 20 gr, akuades 1 L, klorampenikol 1 kapsul. Cara pembuatan media dilaksanakan dengan mendidihkan akuades bersamaan dengan semua bahan kecuali agar dan klorampenikol. Agar dimasukkan setelah air mendidih dan diaduk hingga merata, kemudian klorampenikol dimasukkan. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol media. Media dalam botol disterilkan menggunakan autoclave selama 20 menit dengan suhu 120 °C (Bergman, 2001).

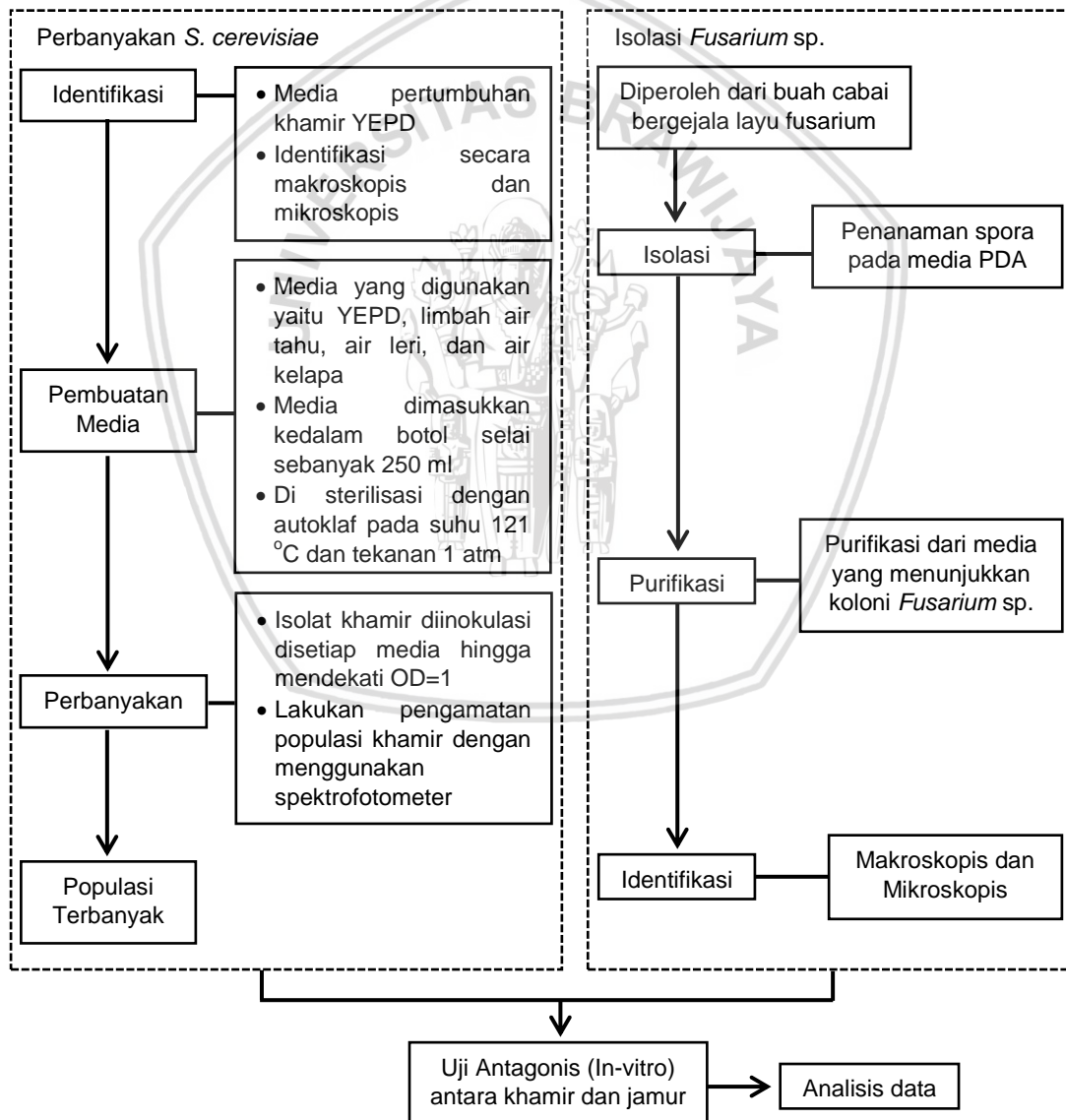
#### **Penyiapan Media untuk Patogen dan Uji Antagonis**

Media isolasi patogen dan uji antagonis menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Media PDA merupakan media yang secara umum sering digunakan untuk isolasi patogen. Pembuatan 1 L PDA diperlukan kentang 250 gr, dextrose 20 gr, agar 20 gr, klorampenikol 2 kapsul, akuades 1 L. Untuk membuat media PDA, kentang dikupas dan dipotong dadu dengan volume kurang lebih 1 cm<sup>3</sup> kemudian dicuci sampai bersih. Selanjutnya kentang direbus dalam 1 L akuades hingga kentang lunak selama ±1 jam. Setelah lunak, kentang ditiriskan dan diambil air hasil rebusan. Dextrose dimasukkan ke dalam sari kentang kemudian di-didihkan. Setelah mendidih agar dimasukkan ke dalam

larutan dan diaduk hingga larut, kemudian klorampenikol dimasukkan. Botol media ditutup menggunakan kapas, dilapisi menggunakan aluminium foil selanjutnya dibalut dengan *plastic wrapping*. Media dalam botol disterilkan menggunakan autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C (Sastrahidayat, 2014).

### Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari sterilisasi alat, pembuatan media pembiakan khamir, pembuatan media antagonis, peremajaan khamir, pembiakan isolat khamir, dan uji antagonis secara *in vitro* dapat diikuti pada (Gambar 7).



Gambar 7. Kerangka operasional penelitian



### Identifikasi Khamir

Proses identifikasi mengacu pada metode Muhibuddin *et al.* (2016) pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis berdasarkan kemunculan morfologi koloni setelah isolasi dan permunian termasuk bentuk, tekstur, warna, permukaan, elevasi, dan tepi koloni. Sedangkan pengamatan mikroskopis berdasarkan bentuk sel, ukuran, jenis tunas, ada tidaknya hifa atau pseudohyphae dan jenis spora yang diperoleh dari isolat.

### Isolasi dan Identifikasi Patogen *Fusarium* sp.

Jamur *Fusarium* sp. diisolasi dari permukaan buah cabai yang menunjukkan gejala penyakit yang diperoleh dari lapang. Metode isolasi jamur mengacu pada Zuhria *et al.* (2016) buah dicuci dengan akuades steril, kemudian dipotong dengan ukuran 1 cm dengan setengah bagian sehat dan setengah bagian sakit, selanjutnya direndam dalam NaOCl 1%, dalam alkohol 70%, dalam akuades steril masing-masing selama 1 menit, dan dikering anginkan pada tisu, kemudian ditanam pada media PDA secara aseptik. Selanjutnya isolat diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang. Setelah diinkubasi selanjutnya permunian dilakukan dengan mengambil kultur murni dan dibiakkan lagi ke dalam media PDA baru hingga menjadi kultur murni.

Cara melakukan purifikasi mengacu pada metode Shofiana *et al.* (2015) yaitu jamur yang telah diisolasi diambil dan dipisahkan ke dalam media PDA baru dengan menggunakan jarum ose. Setelah didapatkan isolat murni selanjutnya jamur diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

Identifikasi secara makroskopis dengan mengamati pertumbuhan koloni jamur pada cawan petri, warna koloni, tekstur koloni, pola persebaran dan ada tidaknya lingkaran konsentris. Sebelum melakukan pengamatan secara mikroskopis perlu dilakukan pembuatan preparat patogen yang dilakukan dengan cara menetes preparat dengan sedikit akuades steril, kemudian tempelkan solasi pada patogen agar konidia jamur menempel pada solasi. Selanjutnya tempelkan solasi pada preparat yang telah ditetesi akuades steril. Pengamatan morfologi dilakukan dengan bantuan mikroskop yang kemudian membandingkannya dengan buku kunci identifikasi jamur.

### Pembuatan Media Perbanyak Khamir

Pembuatan media perbanyak khamir menggunakan 4 bahan yaitu YEPD, air limbah tahu, air leri, dan air kelapa. Untuk pembuatan media kontrol (YEPD cair) yaitu *yeast extract* 1 gr, peptone 2 gr, dextrose 2 gr, agar 1,5 gr, dan akuades steril 100 ml dicampur dan diaduk hingga rata sambil dipanaskan di atas kompor hingga mendidih, lalu masukkan kedalam tabung erlenmeyer.

Untuk pembuatan media limbah air tahu, air leri, dan air kelapa, yaitu dengan langsung memasukkan bahan sebanyak 250 ml kedalam botol media. Kemudian semua media yang telah dibuat dimasukkan ke dalam botol selai sebanyak 250 ml. setelah itu semua media yang telah dimasukkan kedalam botol selai disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm untuk menghilangkan kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan.

### Uji Perkembangbiakan *S. cerevisiae* pada Berbagai Media

*S. cerevisiae* yang telah tumbuh pada media YEPD agar kemudian diinokulasi sebanyak satu ose pada media YEPD cair dengan ketentuan *yeast extract* sebanyak 1 gr, peptone 2 gr, dextrose 2 gr, dan akuades steril 100 ml. Tahapan inokulasi mengacu pada metode Suprayogi *et al.* (2015) Inokulasi dilakukan dengan cara menyiapkan media cair yang telah disterilisasi 250 ml. lalu inokulasi isolate yang diambil dari biakan koloni tunggal menggunakan jarum ose kedalam tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 24 jam menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 160 rpm. Selain itu khamir yang telah tumbuh pada media YEPD cair disamakan nilai OD (*Optical Density*) sama dengan 1. Kemudian limbah cair tahu, air leri, dan air kelapa dilakukan penambahan suspensi khamir yang sudah diketahui nilai OD sama dengan 1 sebanyak 10 ml. Botol kemudian ditutup menggunakan *aluminium foil* untuk meniadakan kontaminasi oleh mikroba lain. Pengujian dilaksanakan menggunakan perlakuan monofaktor yaitu lama inkubasi dengan 4 perlakuan.

Tabel 4. Perlakuan lama inkubasi khamir pada berbagai media

Perlakuan	Keterangan
YEPD cair (kontrol)	Lama inkubasi 0 hari
Air Tahu	Lama inkubasi 2 hari
Air Leri	Lama inkubasi 4 hari
Air Kelapa	Lama inkubasi 6 hari

### Uji Antagonis *S. cerevisiae* dengan Jamur *Fusarium* sp.

Uji antagonis isolat khamir *S. cerevisiae* dengan *Fusarium* sp. dilakukan secara *in vitro* pada media PDA. Media yang digunakan untuk pengujian ini mengacu pada Nurlela *et al.* (2016) jamur patogen dan khamir ditumbuhkan pada media PDA. Khamir yang diujikan yaitu *S. cerevisiae* hasil perbanyakan pada berbagai media. Uji antagonis isolat khamir dengan jamur *Fusarium* sp. menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan dua perlakuan dan lima kali ulangan. Metode pengujian khamir secara *in vitro* mengacu pada Shofiana *et al.* (2015) yang dimodifikasi. Dimana terdapat dua perlakuan yaitu khamir dan patogen diinokulasi pada waktu yang sama (P1) dan khamir diinokulasi 3 HSI (Hari Setelah Inokulasi) patogen (P2).

Tabel 5. Perlakuan uji antagonis *S. cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp.

Perlakuan	Keterangan
Kontrol	Tanpa Khamir
P1	Patogen 0 HSI + Khamir 0 HSI
P2	Patogen 0 HSI + Khamir 3 HSI

Pengujian isolat khamir yang diperoleh dilakukan dengan cara menggoreskan khamir pada media PDA tepat ditengah cawan petri berdiameter 9 cm dengan posisi tegak lurus sebanyak 1 lup inokulasi. Kemudian biakan *Fusarium* sp. yang didapat diambil dengan jarum ose dan diletakkan pada sisi kanan dan kiri goresan khamir dengan jarak 3 cm kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan dimati selama 7 hari dengan cara mengukur lebar zona hambat khamir terhadap *Fusarium* sp..

### Parameter Pengamatan

#### Jumlah Populasi

Jumlah populasi diukur menggunakan metode spektrofotometer. Variabel pengamatan berupa sifat biologi dilakukan dengan mengatur nilai OD (*Optical Density*). Pengukuran nilai OD dilakukan dengan mengambil contoh substrat pada perbanyakan setiap 24 jam sekali yang masing-masingnya sebanyak 3 ml selama 4 hari pengamatan. Jumlah sel dihitung menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 600 nm.

### pH dan Suhu

Dilakukan menggunakan alat pH meter. Pengamatan tersebut dilakukan dengan cara memasukkan elektroda dan stik pengukur kedalam substrat (Widayanti, 2013 dimodifikasi).

### Tingkat Hambatan Relatif

Persentase Tingkat Hambatan Relatif dari uji antagonis khamir *S. cerevisiae* terhadap patogen *Fusarium* sp. akan dihitung setelah 7 HSI. Persentase Tingkat Hambatan Relatif dihitung menggunakan rumus Begum *et al.* (2008):

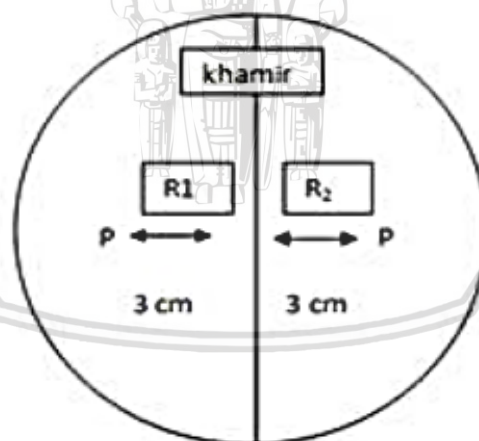
$$THR = \frac{dk - dp}{dk} \times 100\%$$

Keterangan:

THR = Tingkat hambatan relatif terhadap pertumbuhan patogen

dk = Jumlah jari-jari koloni (R1+R2) patogen tanpa perlakuan khamir (kontrol)

dp = Jumlah jari-jari koloni (R1+R2) patogen yang diberi perlakuan



Gambar 8. Bagan uji antagonis secara in vitro pada petridish (Begum *et al.*, 2008)

### Analisis Data

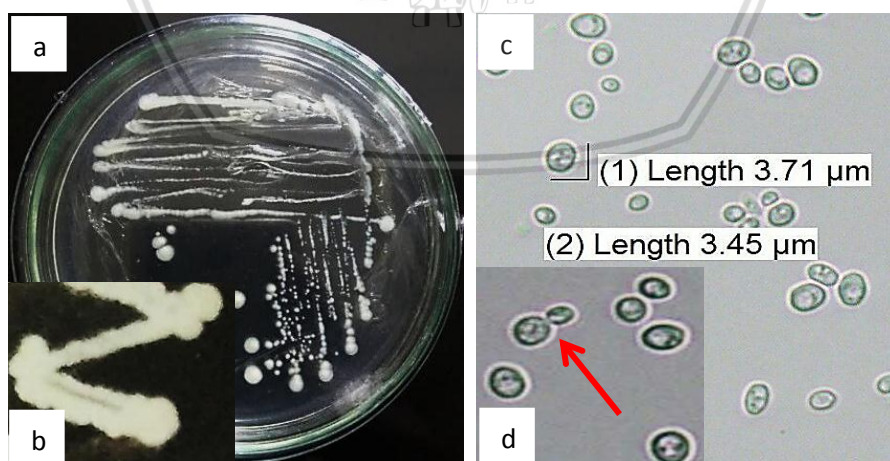
Data yang diperoleh dari hasil perbanyakan dan pengujian daya hambat khamir terhadap patogen *Fusarium* sp. dianalisis dengan analisis ragam (Anova) menggunakan DSAASTAT. Selanjutnya apabila terdapat hasil yang berbeda nyata, maka akan dilanjutkan menggunakan uji DMRT pada perbanyakan dan BNT pada uji antagonis taraf kesalahan 5%.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi *S. cerevisiae*

Hasil pengamatan secara makroskopis khamir *S. cerevisiae* menunjukkan bahwa koloni berbentuk bulat, berwarna putih agak kekuningan, permukaan lembut, licin dan tekstur lunak, serta memiliki tepian yang bergigi (Gambar 9b). Menurut Ahmad (2005) penampakan makroskopis *S. cerevisiae* mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak, dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah. Koloni tidak menunjukkan adanya miselium yang biasanya berupa serabut menyerupai kapas. Khamir membutuhkan waktu 3 hari untuk membentuk garis padat.

Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa sel khamir memiliki ciri berbentuk oval, satu sel memiliki satu nukleus dan dari kumpulan sel menunjukkan terdapat sel tunggal dan berpasangan. Hasil pengukuran menunjukkan panjang dan lebar sel khamir masing-masing berukuran 3,45-3,71  $\mu\text{m}$ , dapat dilihat pada (Gambar 9c). Reproduksi aseksual dilakukan dengan pertunasan multilateral. Ciri-ciri ini sesuai dengan Muhibuddin *et al.* (2016) yang mendeskripsikan bahwa sel khamir *S. cerevisiae* berbentuk bulat sampai oval dan multilateral budding. Khamir *S. cerevisiae* memiliki ukuran panjang 5-30  $\mu\text{m}$  dan lebar 1-5  $\mu\text{m}$ . Kulit sel sangat tipis ketika masih muda tetapi semakin tebal ketika dewasa (Mahreni & Suhenry, 2011).



Gambar 9. Makroskopis dan mikroskopis *S. cerevisiae*. a: Koloni murni khamir umur tiga HSI pada media YEPD, b: Tepian dan tekstur koloni khamir, c: Koloni sel khamir dibawah mikroskop, d: Pertunasan sel khamir yang ditunjukkan anak panah



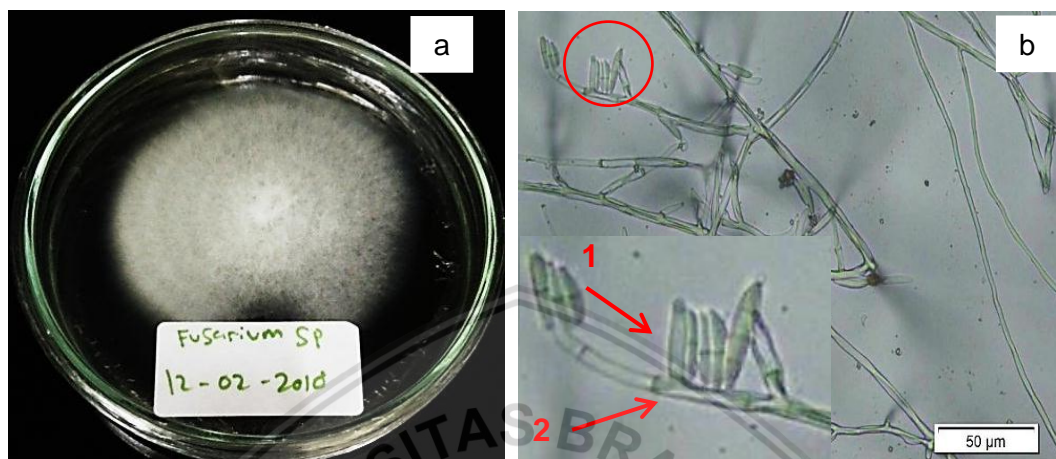
### Isolasi dan Identifikasi Patogen *Fusarium* sp.

Menurut Semangun (2000), Jamur *Fusarium* sp. ini merupakan patogen tanaman yang penting secara ekonomi karena dapat menyebabkan busuk dan layu pada akar, batang maupun kecambah pada lebih dari 100 jenis tanaman, sehingga penyakit ini termasuk penyakit tumbuhan yang paling merugikan di tropika. Selama ini pengendaliannya dengan menggunakan fungisida sintetik selalu diikuti dengan pertimbangan ekonomi dan dampak negatif terhadap lingkungan. Menghadapi kenyataan tersebut perlu segera diupayakan pengurangan penggunaan fungisida kimiawi dan mengalihkannya pada jenis fungisida yang aman bagi lingkungan. Salah satu upaya pengendaliannya adalah dengan memanfaatkan agen hayati khamir antagonis *S. cerevisiae*.

Isolasi jamur patogen *Fusarium* sp. didapat dari buah cabai yang menunjukkan gejala penyakit fusarium kemudian dibiakkan pada media PDA. Hasil pengamatan isolasi patogen didapatkan biakan murni *Fusarium* sp., berdasarkan pengamatan secara makroskopis *Fusarium* sp. memiliki pola persebaran bulat menggunung dengan tekstur lembut atau halus, kerapatan yang rapat dan tebal. Pada awal pertumbuhan koloni berwarna putih seperti kapas kemudian berubah menjadi putih agak kekuningan, dapat dilihat pada (Gambar 10a). Hal ini sesuai Agrios (1996) yang menyatakan bahwa jamur *Fusarium* sp. memiliki ciri-ciri morfologi miselium bersekat yang mula-mula berwarna putih dan lambat laun berwarna krem atau kuning pucat, semakin tua warnanya menjadi krem dan akhirnya tampak benang-benang berwarna oker.

Kenampakan mikroskopis pada jamur tersebut terlihat memiliki hifa bersekat, berwarna hialin. Konidia berbentuk seperti bulan sabit, berwarna hialin, bersekat dan bergerombol, dapat dilihat pada (Gambar 10b). Menurut Barnett dan Hunter (1998) menyatakan bahwa jamur *Fusarium* sp. mempunyai miselium seperti kapas, warna pada konidia hialin. Jamur ini mempunyai tiga alat reproduksi aseksual, yaitu mikrokonidia (terdiri dari satu sel), makrokonidia (dua sampai enam septa) dan kladospora (merupakan pembengkakan pada hifa) (Webster and Weber, 2007). Bentuk makrokonidium melengkung panjang dengan ujung mengecil dan mempunyai sekat antara 1-10 atau lebih, sedangkan mikrokonidium bentuknya pendek, tidak bersekat atau bersekat satu. Dalam bentuk kladospora, menghasilkan mikrokonidia bening, silindris atau seperti perahu dan bersekat-sekat (Mehrotra, 1990). Dinding sel *Fusarium* sp. tersusun

atas 39% kitin, 29% glukukan, 7% protein dan 6% lemak (Webster and Weber, 2007). Kandungan kitin pada dinding sel jamur *Fusarium oxysporum* ini akan memicu pembentukan enzim degradatif oleh antagonismenya.



Gambar 10. Pengamatan Jamur *Fusarium* sp.. a: Makroskopis pada media PDA, b: Mikroskopis; 1: Konidia, 2: Hifa

### Pengaruh Jenis Media terhadap Populasi Khamir

Pertumbuhan dan perkembangan khamir dalam proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh substrat fermentasi sebagai sumber nutrisi. Nutrisi dalam bahan baku atau penambahan bahan tertentu dalam substrat fermentasi akan sangat berpengaruh pada aktivitas khamir dalam melakukan fermentasi. Pada (Tabel 6) menunjukkan bahwa khamir *S. cerevisiae* dapat tumbuh pada 4 media perbanyakannya. Jumlah populasi khamir *S. cerevisiae* sangat tergantung pada nutrisi media pertumbuhannya. Sel khamir *S. cerevisiae* yang diperbanyak pada media menunjukkan sel yang sama pada setiap perlakuan. Namun rerata jumlah populasi terendah pada waktu pengamatan selama 6 hari adalah perlakuan limbah air tahu.

Tabel 6. Populasi *S. cerevisiae* pada beberapa jenis media

Perlakuan	Jumlah Populasi (CFU/ml)		
	2 Hari	4 Hari	6 Hari
YEPD cair (Kontrol)	0,16 a	1,14 b	1,16 b
Air Tahu	0,12 a	0,35 a	0,67 a
Air Leri	0,21 a	1,17 b	1,42 c
Air Kelapa	0,25 a	1,47 c	1,55 c

Hasil penelitian diketahui bahwa perlakuan lama inkubasi selama enam hari berpengaruh terhadap perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae*. Perhitungan analisis ragam perbanyakan ditampilkan pada (Lampiran Tabel 5). Pada hari terakhir pengamatan diketahui bahwa limbah air tahu memiliki nilai jumlah populasi terendah dengan nilai absorbansi yaitu 0,67. Sedangkan pada perlakuan YEPD cair (kontrol) menunjukkan pengaruh beda nyata dengan media limbah air tahu yang mana nilai absorbansinya yaitu 1,16. Pada perlakuan air leri menunjukkan pengaruh beda nyata dengan perlakuan kontrol dan limbah air tahu dimana nilai absorbansinya yaitu 1,42. Pada perlakuan air kelapa menunjukkan pengaruh beda nyata dengan perlakuan kontrol dan air tahu, media kelapa memiliki nilai absorbansi tertinggi yaitu 1,55.

Hal ini sesuai dengan Sahayaraj & Namasivayam (2008) yang menyatakan bahwa pertumbuhan dan produksi sel pada media air kelapa lebih tinggi daripada media dari produk pertanian lain. *S. cerevisiae* hanya dapat menggunakan karbohidrat sederhana seperti yang terdapat pada air kelapa. Menurut Nuraida *et al.* (1996) air kelapa mengandung karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, inositol, dan sorbitol yang dapat digunakan oleh *S. cerevisiae* sebagai sumber karbon.

Inkubasi selama enam hari, *S. cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang cepat karena nutrisi yang terkandung dalam media tersedia dalam jumlah yang berlebih untuk dimanfaatkan *S. cerevisiae* bagi pertumbuhannya. Khamir *S. cerevisiae* memanfaatkan protein, karbon, dan mineral dalam media sebagai substrat metabolisme untuk sintesis komponen sel. Protein, karbon, dan mineral tersebut dapat diperoleh dari ekstrak khamir, peptone, dekstrose, limbah air tahu, air leri, dan air kelapa. Kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti pH, suhu, kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Selain itu, pada fase ini mikroorganisme membutuhkan energi lebih banyak daripada fase lainnya.

Proses fermentasi tidak terlepas dari adanya perubahan suhu. Suhu fermentasi mempengaruhi lama fermentasi karena pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh suhu lingkungan. Dari data (Tabel 7) terlihat bahwa perbanyakan khamir tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap suhu dan pH. Hasil penelitian telah dilakukan oleh Sukoso & Arumingtyas (2003) menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* mampu tumbuh dengan baik pada media cair

maupun padat pada suhu kamar (25-28°C). Sehingga dengan demikian pertumbuhan *S. cerevisiae* tetap dapat tumbuh dengan baik. Jika suhu terlalu rendah, maka fermentasi berlangsung secara lambat dan sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka khamir *S. cerevisiae* mengalami kematian sehingga proses fermentasi tidak bisa berlangsung. Perubahan pH dapat terjadi karena H dilepaskan selama konsumsi  $\text{NH}_4^+$  dan dikonsumsi selama metabolisme  $\text{NO}_3^-$  dan penggunaan asam amino sebagai sumber karbon (Fardiaz, 1992).

Tabel 7. Pengamatan suhu dan pH

Perlakuan	Pengamatan (Hari)							
	Suhu (°C)				pH			
	0	2	4	6	0	2	4	6
YEPD cair (Kontrol)	27,1	27,1	27	27,1	6,6	6,5	6,5	6,7
Air Tahu	27,5	27,3	27	27	6,5	6,5	6,6	6,7
Air Leri	27,1	27	27	27,2	6,6	6,6	6,5	6,69
Air Kelapa	27,5	27,1	27	27,2	6,63	6,6	6,5	6,7

Dari hasil tersebut menunjukkan pada pengamatan suhu dan pH tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil pengamatan selama enam hari. Pada pengamatan suhu setelah hari pertama pengamatan suhu terus menurun hingga hari keempat, namun penurunannya tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan khamir karena nilainya masih pada kondisi optimum untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* sedangkan pada pengamatan nilai pH nilainya cenderung meningkat hingga hari keenam.

Menurut Nurhidayat et al. (2006) khamir memerlukan media dengan suasana asam, nilai pH media masih berada dalam batas normal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu 2,5-8,5, sehingga perubahan pH pada semua media tidak menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*.

Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda-beda. Hasil penelitian menunjukkan nilai pH media tersebut masih berada dalam batas normal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* sehingga perubahan pH pada semua media tidak menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*. Menurut Said (1987) perubahan pH disebabkan oleh adanya asam-asam organik seperti asam laktat, asetat, dan piruvat yang terbentuk selama proses pertumbuhan. Pada media pertumbuhan,



pH mempunyai peran yang sangat penting. Dari (Tabel 6) tersebut dapat dilihat pH pada media mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan sumber karbon dalam media mulai tidak mencukupi sehingga terjadi pembongkaran protein dalam media untuk aktivitas metabolismenya. Proses metabolisme tersebut akan menghasilkan metabolit-metabolit hasil degradasi protein seperti urea dan ion-ion amonium yang dapat menyebabkan kenaikan pH (Kuswardani & Wijajaseputra, 1998).

Perbedaan jumlah sel *S. cerevisiae* pada berbagai media yang digunakan disebabkan oleh persediaan zat-zat nutrisi yang terdapat dalam masing-masing media tersebut. Menurut Amaria *et al.* (2001) untuk tumbuh dan berkembangbiak *S. cerevisiae* memerlukan unsur-unsur seperti C, H, O, N, S, P, K dan berbagai mineral seperti Fe, Mg, Na, dan Mn. Semakin baik nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya. Maka pertumbuhan sel semakin cepat sehingga akan meningkatkan kadar protein sel (Fardiaz, 1992).

Khamir diperlukan untuk menguraikan bahan organik yang ada didalam limbah air kelapa. Setiap khamir mempunyai kemampuan yang berbeda dalam metabolisme protein, karbohidrat dan lemak. Oleh karena itu, diperlukan jumlah khamir yang cukup untuk menguraikan bahan-bahan tersebut. Khamir akan berkembang biak apabila jumlah makanan yang terkandung didalamnya cukup tersedia, sehingga pertumbuhan khamir dapat dipertahankan secara konstan (Mahreni, 2011).

#### **Uji Antagonis *S. cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp.**

Pengujian antagonis dilakukan terhadap khamir *S. cerevisiae* dengan patogen *Fusarium* sp. pada media PDA. Pengamatan daya hambat khamir terhadap patogen dilakukan sejak 1 hari setelah inokulasi (HSI) sampai 7 HSI. Hasil pengujian menunjukkan adanya persentase penghambatan *S. cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp..

Perlakuan isolat khamir *S. cerevisiae* yang diujikan mampu memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan patogen *Fusarium* sp. yang diisolasi dari buah cabai. Menurut McLaughlin (2000) melaporkan bahwa khamir yang diisolasi dari permukaan buah kemungkinan lebih efektif sebagai agensi pengendali hayati karena khamir telah beradaptasi terhadap lingkungan tersebut sehingga lebih efektif mengkolonisasi dan berkompetisi terhadap ruang dan nutrisi yang tersedia. Persentase hambatan yang tertinggi ditunjukkan pada perlakuan P1



dimana khamir dan patogen diinokulasi pada waktu yang sama yaitu 0 HSI. Sedangkan perlakuan khamir *S. cerevisiae* yang menunjukkan persentase terendah adalah perlakuan P2 dimana khamir dan pathogen diinokulasi pada waktu yang berbeda yaitu *Fusarium* sp. 0 HSI, dan *S. cerevisiae* 3 HSI. Kontrol menunjukkan persentase hambatan paling rendah dimana tidak ada hambatan sama sekali selama pengamatan.

Pada (Tabel 8) menunjukkan pengaruh beda nyata antara perlakuan dengan kontrol dalam menghambat pertumbuhan patogen *Fusarium* sp. Pada perlakuan P1 (0 HSI) dan P2 (3 HSI) dari hari ke-1 hingga hari ke-7 pengamatan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan, dimana perlakuan P2 berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dengan persentase hambatan 17,67%. Sedangkan perlakuan P1 menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan P2 dengan persentase hambatan yaitu sebesar 23,67%. menurut Fleming (1975) menyatakan bahwa terbentuknya hambatan sebesar 0,5 mm atau lebih terhadap patogen maka *S. cerevisiae* dinilai positif mempunyai potensi sebagai probiotik.

Tabel 8. Rerata persentase hambatan khamir *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan patogen *Fusarium* sp. pada 7 HSI

Perlakuan	Rerata Persentase Hambatan (%)
Kontrol	0,00 a
P1 (Patogen 0 HSI + Khamir 0 HSI)	23,67 c
P2 (Patogen 0 HSI + Khamir 3 HSI)	17,67 b

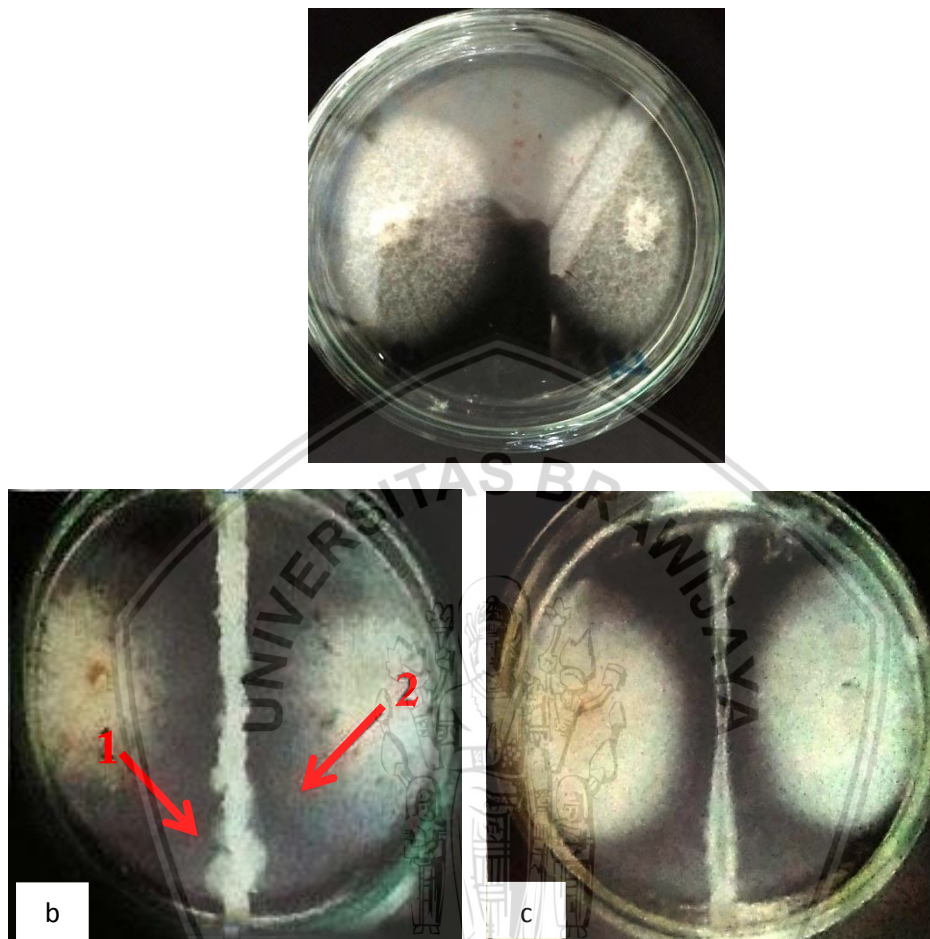
Dari (Gambar 11) terlihat jelas perbedaan antara kontrol dengan perlakuan, dimana pada perlakuan menunjukkan patogen dapat tumbuh mendekat khamir tetapi hifa yang semakin dekat dengan khamir terlihat semakin transparan. Pada perlakuan P1 juga terlihat khamir mengeluarkan cairan atau zona bening yang diduga digunakan untuk menghambat pertumbuhan patogen. Hal ini membuktikan bahwa terjadi mekanisme antagonis antara khamir dengan patogen. Menurut Nunes (2012) kemampuan khamir dalam menekan kejadian penyakit diduga karena khamir menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi dinding sel patogen. Khamir memiliki mekanisme antagonis berupa kompetisi nutrisi dan ruang, parasitisme dan produksi enzim litik serta induksi ketahanan sehingga mampu mengendalikan beberapa patogen pasca panen. Terbentuknya

zona hambatan yang diduga merupakan mekanisme enzimatik yang dihasilkan oleh khamir sebagai akibat dari adanya kompetisi makanan dan tempat hidup antara khamir dan patogen (Hartati *et al.*, 2014).

Mekanisme antibiosis yang dihasilkan yaitu antibiosis dan kompetisi. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening di antara khamir dan patogen. *S. cerevisiae* mengeluarkan zat antibiosis juga dapat dibuktikan dengan tidak tumbuhnya jamur patogen pada media yang terdapat zona bening. Antibiosis merupakan salah satu mekanisme antagonis oleh khamir dengan menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Madigan *et al.*, 2012). Beberapa contoh senyawa tersebut adalah enzim litik, senyawa volatile, siderofor, serta killer toksin. Penggunaan senyawa metabolit sekunder atau senyawa toksik sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan patogen menjadi terhambat (Haggag & Mohamed, 2007). Sedangkan kompetisi ditunjukkan dengan adanya perbedaan kecepatan tumbuh antara khamir dengan koloni patogen. Mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi merupakan mekanisme yang umum dilakukan oleh khamir dalam mendominasi habitat karena pertumbuhannya yang lebih cepat. Khamir dapat tumbuh cepat, mendominasi dan mengkolonisasi di habitat baru dengan sumberdaya terbatas (Bellows & Fisher, 1999). Khamir merupakan mikroorganisme yang adaptif terhadap lingkungan baru. Beberapa khamir dapat tumbuh pada lingkungan mikro dengan kondisi kandungan gula tinggi, tekanan osmotik tinggi, dan pH rendah (Lopez *et al.*, 2009). Kemampuan antagonisme khamir akan lebih meningkat terhadap mikroorganisme dari habitat yang berbeda karena dianggap sebagai kompetitor baru yang harus dikalahkan untuk dapat mendominasi ruang dan nutrisi yang tersedia (Golubev, 2006).

Menurut El Ghaouth *et al.* (2003) menyatakan bahwa khamir *S. cerevisiae* mampu menghasilkan etanol, enzim  $\beta$ -1,3-glukanase, kitinase, peroxidase, ethyl acetate, senyawa volatile yang bersifat anti jamur, toksin dan antibiotik. Enzim yang dihasilkan oleh khamir mampu mendegradasi dinding sel patogen dengan merangsang hidrolisis kandungan kitin yang merupakan komponen terbesar penyusun dinding sel cendawan (Chet dan Henis, 1975). Enzim  $\beta$ -1,3-glukanase dan kitinase yang dihasilkan oleh khamir *S. cerevisiae* merupakan enzim yang berfungsi sebagai enzim pendegradasi masing-masing kitin dan glukukan yang terdapat dalam dinding sel jamur patogen sehingga menyebabkan lisisnya

dinding sel. Produksi enzim pengurai dinding sel oleh antagonis akan mendorong secara beruntun dalam parasitisme dan antibiosis (Nugraha *et al.*, 2003).



Gambar 11. Antagonis khamir *S. cerevisiae* terhadap patogen *Fusarium* sp. pada 7 HSI. a. Kontrol; b. P1 (0 HSI); c. P2 (3 HSI); 1. Zona bening khamir; 2. Hifa yang terlihat transparan

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

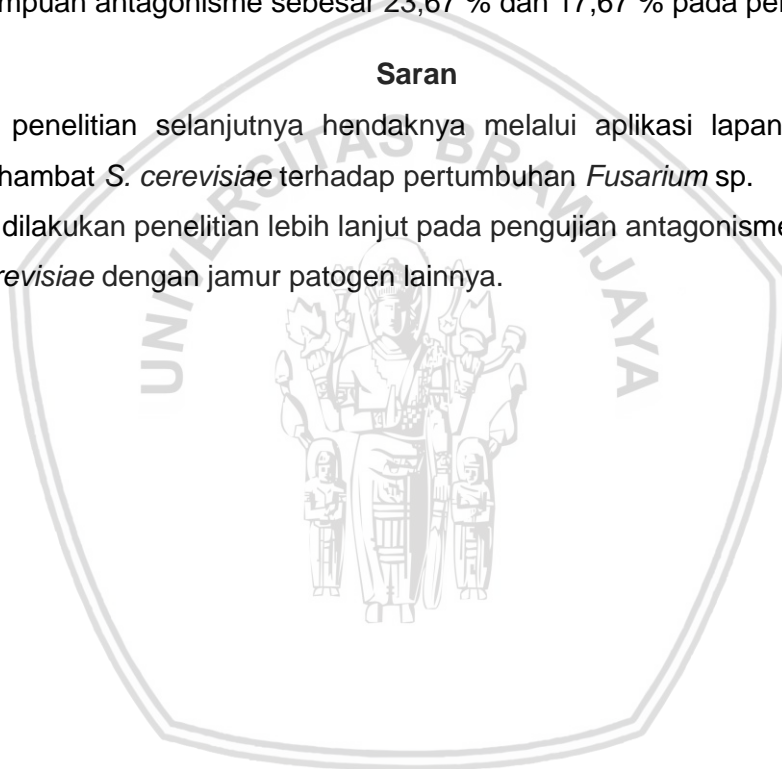
### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Air kelapa menghasilkan jumlah populasi tertinggi pada perbanyakan khamir *S. cerevisiae* dibandingkan dengan media lainnya.
2. Berdasarkan pengujian antagonisme khamir dengan jamur *Fusarium* sp. yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perlakuan P1 khamir memiliki kemampuan antagonisme sebesar 23,67 % dan 17,67 % pada perlakuan P2.

### Saran

1. Pada penelitian selanjutnya hendaknya melalui aplikasi lapang mengenai daya hambat *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan *Fusarium* sp.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada pengujian antagonisme *S. cerevisiae* dengan jamur patogen lainnya.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, R. Jumiaty. 2007. Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Penyemprotan Pupuk Organik Cair Sper ACI terhadap Pertumbuhan dan Hasil Jagung Manis, J. Agritrop. 26(3): 105-109.
- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ahmad, R.Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. Jurnal Wartazoa. 15(1): 49-55.
- Amaria, Isnawati, Rini, & Tukiran. 2001. Biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dari Limbah Buah dan Sayur Sebagai Sumber Vitamin B. Himpunan Makalah Seminar Nasional Teknologi Pangan. 150p.
- Angelina, A., T. Rosiana, N. Istianah, S. Gunawan dan A.K. Anal. 2013. Pengujian Parameter Biji Sorgum dan Pengaruh Analisa Total Asam Laktat dan pH Pada Tepung Sorgum Terfermentasi Menggunakan Baker Yeast (*Saccharomyces cereviceae*). Jurnal Teknik Pomits 2(2): 279-281.
- Arnata, I.W., Dwi, S., Richana, N. 2009. Bioprocess Technology to Produce Bioethanol from Cassava by Co-Culture *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. Prossiding. International. Conference on Biotechnology for Suistainable Future.
- Asian Pasific Coconut Community (APCC). 2002. Standard for virgin coconut oil. <http://www.apccsec.org/article-coconut.html>. Diunduh pada tanggal 7 April 2018.
- Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC). 2010. Characterization of *Colletotrichum* spp. Causing Pepper Anthracnose and Developmentof Resistant Pepper Lines. The World Vegetable Center. Asian Seed Congress.
- Azizah, N., Al-Baarri, Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Subtitusi Kulit Nanas. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 2(2).
- Baker, K.F. and Cook, R.J. 1983. Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. Minnesota: The American Phytopathology Society Press.
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter. 1998. Illustrated Marga of Imperfect Fungi. 4<sup>th</sup> ed. USA: Pretice-Hall, Inc.
- Barton, L.L. & D.E. Northup. 2011. Microbial Ecology. John Wiley & Sons, New Jersey. 407p.
- Begum, M.M., M. Sariah & M.A. Zainal. 2008. Antagonistic Potensial of Selected Fungal and Bacterial Biocontrol Agens against *Collectotrichum truncatum*



- of Soybean Seeds. *Pertanika Journal Tropic Agriculture Science* 31(1): 45-53.
- Bellows, T.S., & F.W. Fisher. 1999. *Biological Control Principles and Applications of Biological Control*. Academic Press.
- Bruehl, G.W. 1987. *Soilborne Plant Pathogen*. Macmillan Publishing Company. New York.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., and Wouton, M. 2007. *Ilmu Pangan*. Terjemahan dari *Food Science* oleh Purnomo H dan Adiono. Universitas Indonesia (UI-PreJK). Jakarta.
- Campbell, R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge. New York. Sydney. 169-183 pp.
- Crueger. 1990. *Biotechnology: a Textbook of Industrial Microbiology*. Science Tech, Inc. USA.
- De Mot, R. 1990. Conversion of starch by yeasts. Dalam: Verachtert, H. dan De Mot R. (ed.). *Yeasts Biotechnology and Biocatalysis*, hal 163. Marcel Dekker, New York.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*: Jakarta.
- Djaja, W. 2008. *Langkah Jitu Membuat Kompos dari Kotoran Ternak dan Sampah*. PT. Agromedia Pustaka. Yogyakarta.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta. Djambatan.
- El-Tarabily, K.A. & K. Sivasithamparam. 2006. Potential of Yeasts as Biocontrol Agents of Soil-borne Fungal Plant Pathogens and as Plant Growth Promoters. *Mycoscience* 47: 25-35.
- Fardiaz, S. 1987. *Fisiologi Fermentasi*. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- \_\_\_\_\_. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 2002. *Panduan Pengolahan Pangan yang Baik bagi Industri Rumah Tangga*, Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Fleming, H.P., J.L. Etchells. & R.N. Costilow. *Applied Microbiology*. 30 (6): 1040-1042.
- Forsith, W.G.C. & V.C., Quesnel. 1963. *Mechanisme of Cocoa Cuning Advence in Enzimologst*. New York: Mc Graw Hill Book Co.
- Golubev, W.I. 2006. *Antagonistic Anteractions among Yeast*. Springer, Germany: 197-219.

- Hadi, Sutrisno. 1978. Metodologi Research. Yayasan Penerbitan Fakultas Psikologi UGM. Yogyakarta.
- Haggag, W.M. & H. Mohamed. 2007. Biotechnological Aspects of Mikroorganims Used in Plant Biological Control. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture 1: 7-12.
- Hartati, S., S. Wiyono., S.H. Hidayat & M.S. Sinaga. 2014. Seleksi Khamir Epifit sebagai Agens Antagonis Penyakit Antraknosa Pada Cabai. J. Hort 24(3): 258-265.
- Haryono, B., Hamamoto, M., Kuswanto K.R. & Nakase, T. 1998. Systematics of Ballistoconidium-forming Yeast Isolated from Plants in Indonesia. Internationl Conference on Asian Network on Microbial Research. Yogyakarta. February: 223-231.
- Hashem, M., S. Alamri. 2009. The Biocontrol of Postharvest Disease (*Botryodiplodia theobromae*) of Guava (*Psidium guajava*) by the Application of Yeast Strains. Postharvest Biol. Technol. 53: 123-130.
- Herlambang, A. 2002. Teknologi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan (BPPT) dan Badan Pengendalian Dampak Lingkungan Samarinda.
- Hogg, S. 2005. Essential Microbiology. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex.
- Indratmi, Dian. 2012. Pengembangan Teknologi Produksi Khamir *Rhodotorula* sp. Sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Antraknosa Pada Cabai. Fakultas Pertanian dan Peternakan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Jean-Michel. 2005. Recent Rock Art and Archaeological Discoveries in East Kalimantan Indonesia. Yogyakarta.
- Kanti, A. 2006. Identifikasi Jenis Khamir yang Diisolasi dari Tanah Gambut Taman Nasional Bukit Dua Belas Jambi. Jurnal Teknologi 11(2): 97-102.
- Kartika, B., dkk, 1992. Petunjuk Evaluasi Produk Industri Hasil Pertanian. Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Kartohardjono, S., Anggara, Subihi, Yuliusma. 2007. Absorpsi CO<sub>2</sub> dari Campurannya dengan CH<sub>4</sub> atau N<sub>2</sub> Melalui Kontaktor Membran Serat Berongga Menggunakan Pelarut Air. Jurnal Teknologi 11(2): 97-102.
- Kavanagh, K. 2005. Fungi Biology & Applications, John Willey & Sons Ltd. England.
- Klotz, L.V., P.E.Nelson dan T.A. Toussoun. 1988. A Medium for Enhancement of Chlamydospore Formation in *Fusarium* species. Mycologia 80:108-109.

- Kumalaningsih, S. dan Hidayat, N. 1995. Mikrobiologi Hasil Pertanian. IKIP Malang.
- Kumar, V., Cotran, R.S., dan Robbins S.L. 2007. Buku Ajar Patologi Edisi 7. Ahli Bahasa: Brahm U, Editor Bahasa Indonesia: Huriawati Hartanto, Nurwany Darmaniah, Nanda Wulandari. Jakarta: EGC.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Thesis. Universitas Dipenogoro. Semarang.
- Kurtzman, C.P., J.W. Fell, T. Boekhout, V. Robert. 2011. Methods for Isolation, Phenotypic Characterization and Maintenance of Yeast. Hal: 87-110. Dalam Kurtzman, C.P., J.W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). The Yeast Taxonomic Study Volume 1 Fifth Edition. Elsevier. London.
- Kuswardani, I. dan A.I. Wijajaseputra. (1998). Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* pada Media Limbah Cair Tahu yang diperkaya: Kajian Optimasi Waktu Panen. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi.
- Lisnasari, S.F. 1995. Pemanfaatan Gulma Air (Aquatic Weeds) Sebagai Upaya Pengolahan Limbah Cair Industri Pembuatan Tahu. Thesis. Program Pascasarjana USU. Medan.
- Lodder, J. 1970. The Yeast: A Taxonomic Study Second Revised and Enlarged Edition. The Netherland, Northolland Publishing Co., Amsterdam.
- Lopez, F.N.A., S. Orlic, A. Querol, E. Barrio. 2009. Sumbers of Temperature, pH and Sugar Concentration on the Growth Parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their Interspecific Hybrid. International Journal of Food and Microbiology. 131: 120-127.
- Machfud, E., G. Said dan Krisnani. 1989. Fermentor. IPB Press. Bogor.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko., D.A. Stahl & J. Parker. 2012. Brock: Biology of Microorganism. 13<sup>th</sup> Edition. Pearson Education, Inc., United States of America. 30p.
- Mahreni & S. Suhenry. 2011. Kinetika Pertumbuhan Sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media Tepung Kulit Pisang. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. 7: 1411-4216.
- Makiyah, M. 2013. Analisis Kadar N, P, dan K Pupuk Cair Limbah Cair Tahu Dengan Penambahan Tanaman Matahari Meksiko (*Tithonia diversifolia*). Semarang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. hlm. 14.
- Mari M, Guizzardi M. 1998. The Postharvest Phase: Emerging Technologies for the Control of Fungal Diseases. Phytoparasitica 26(1): 59-66.

- Mehrotra, R.S. & Aneja, K.R. 1990, An Introduction to Mycology. New York. Wiley Eastern Limited.
- Muharam, A., Sulyo Y., Djatnika dan Marwoto B. 1992. Identifikasi dan Daerah Pencair Penyakit Penting Pada Pisang. Dalam: Prosiding Seminar Sehari. Pisang Sebagai Komoditas Andalan Prospek dan Kendalanya. Cianjur: Sub Balai Penelitian Hortikultura.
- Muhibuddin, A., N.U. Rizki., A.W. Sektiono., & S. Nurhatika. 2016. Ethanol Fermentation Potency of Wild Yeast on Bamboo Rhizosphere. Journal of Environmental Engineering and Sustainable Technology 3(2): 121-127.
- Nuraida, L., S.H. Sihombing & S. Fardiaz. 1996. Produksi Karotenoid pada Limbah Cair Tahu, Air Kelapa dan Onggok oleh Kapang *Neurospora* sp. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 7(1): 67-74.
- Nurhidayat, M., C. Padaga & S. Suhartini. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Nurlela, L., Hakim & M.A. Ulim. 2016. Efektivitas Beberapa Agen Antagonis dan Cara Aplikasinya untuk Menekan Pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* Pada Tanaman Kedelai *Glycine max* L. Merrill. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Unsyiah 1(1): 155-167.
- Palungkun, R. 2004. Aneka Produk Olahan Kelapa. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pimenta, T.V., R.G.F. Pereira, J.L.G. Correa & J.R. Silva. 2009. Roasting Processing of Dry Coffee Cherry: Influence of Grain Shape and Temperature on Physical Chemical and Sensorial Grain Properties. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos Curitiba 27(1): 97-106.
- Ploetz, R.C. 1994. Banana: Compendium of Tropical Fruit Disease. Minnesota: The American Phytopathology Society Press.
- Rahman, Ansori. 1992. Teknologi Fermentasi Industrial: Produksi Metabolit Primer. Bandung; Penerbit Arcan.
- Retnosari, K.S. 2016. Pengaruh Media Pertumbuhan Pada Kerapatan Konidia, Viabilitas, dan Patogenisitas Jamur *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Terhadap *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). Skripsi, Universitas Brawijaya. Malang.
- Rossiana, Nia. 2006. Uji Toksisitas Limbah Cair Tahu Sumedang Terhadap Reproduksi *Daphnia carinata* King. Jurnal. Bandung: FMIPA Biologi, Universitas Padjajaran.
- Rubio, M., A. Texeira. 2005. Comparative Analysis of The Gal Genetic Switch Between Not So Distant Cousins: Sacchariales Versus Kluyveromyces lactis. FEKT Khamir Res 5: 1115-1128.
- Said, G.E. 1987. Bio Industri Penerapan Teknologi Fermentasi. Edisi 1. Jakarta: Mediatama Sarana Perkasa.

- Sahayaraj, K. & S.K.R. Namasivayam. 2008. Mass Production of Entomopathogenic Fungi Using Agricultural Products and by Products. African Journal of Biotechnology 7(12): 1907-1910.
- Sanger. 2004. Peptidase of *Saccharomyces cerevisiae*. Second Edition. Cambridge University Press, London.
- Saragih, Saud Daniel. 2009. Jenis-jenis Fungi pada Beberapa Tingkat Kematangan Gambut. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatra Utara.
- Sastrahidayat, I.R. 1990. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Surabaya: Usaha Nasional.
- \_\_\_\_\_. 2011. Mikologi. UB Press. Malang. 372p.
- Semangun, H. 1994. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- \_\_\_\_\_. 1996. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- \_\_\_\_\_. 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Holtikultura di Indonesia. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- \_\_\_\_\_. 2004. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 850 hal.
- Sharma, S. 2009. Pengaruh Habitat Terhadap Pertumbuhan Khamir. Jakarta: Karisma.
- Shofiana, R.H. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Serta Uji Potensi Antagonismenya terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidopus micoporus*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Singh, R.S. 1999. Plant Diseases. Seventh Edition. Oxford & IBH Publishing CO. PVT. LTD. New Delhi. 640p.
- Sukoco, S.N. 2010. Aplikasi *Saccharomyces cereviceae*, *Pichia ohmeri* dan *Glucanobacter thailandicus* Dalam Bentuk Sel Bebas dan Termobilisasi Gel Alginas Untuk Produksi Arabitol dan Xylitol Nir Tebu. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP UNEJ.
- Sukoso, W. & E.L. Arumingtyas. 2003. Karakterisasi Marine Yeast dari Perairan Laut Jawa Melalui Pendekatan Fisiologi dan Molekuler. Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suprayogi, M.T., Nguyen & N. Lertwattanasakul. 2015. A *Kluyveromyces marxianus* 2-Deoxyglucose Resistant Mutant with Enhanced Activity of Xylose Utilization. Journal International Microbiology. 18: 235-244.
- Sutedjo, M. 1996. Mikrobiologi Tanah. Rineka Cipta. Jakarta.



- Taufika, Rahmi. 2011. Pengujian Beberapa Dosis Pupuk Organik Cair terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Wortel (*Daucus carota* L.). Jurnal Tanaman Hortikultura 1 (1): 1-10.
- Talukder, A.A., F. Easmin, S.A. Mahmud & M. Yamada. 2016. Thermotolerant Yeast Capable of Producing Bioethanol: Isolation from Natural Fermented Sources, Identification and Characterization. Journal Biotechnology & Biotechnological Equipment 30(6): 1106-1114.
- Triyanto. 2008. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Fermentasi Ampas Tahu Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Selada (*Lactuca sativa*) Secara Hidroponik. Agrosains 10(2): 62-68.
- Volt, W.A and Wheeler, M.F. 1998. Mikrobiologi Dasar. Terjemahan dari Basic Microbiology. Fifth Edition. Editor Soemartono Adisoemarto. Penerbit Erlangga.
- Webster, J. & Weber R.W.S. 2007. Interoduction to Fungi. Third Edition. New York: Cambridge University Press.
- Wibowo, D. 1990. Bahan Ajaran Biokimia Proses Fermentasi. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Widayanti, N., P. Rita, Y. Ciawi. 2013. Pengaruh Konsentrasi Amonium Sulfat  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$  sebagai Sumber Nitrogen terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Baku *Glacilaria* sp.. Jurnal Kimia 7(1): 1-10.
- Widyastuti, Y. 1997. Penangan Hasil Panen Tanaman Obat Komersial. Semarang: Trubus Agriwidya.
- Widyastutik, N., N.H. Alami. 2014. Analisis Kualitas Larutan MOL (Mikroorganisme Lokal) Berbasis Daun Gamal (*Gliricidia sepium*). Jurnal Sains dan Seni Pomits 3(1).
- Zuhria, S.A., S. Djauhari., A. Muhibuddin. 2016. Exploration and Antagonistic Test of Endophytic Fungi from Soybean (*Glycine max* L. Merr) with Different Resistance to *Sclerotium rolfsii*. The Journal of Experimental Life Science.



**LAMPIRAN**Tabel Lampiran 1. Populasi Khamir *S. cerevisiae* YEPD (kontrol)

Hari	1	2	3	Rerata
0	0,1	0,1	0,1	0,1
2	0,2	0,1	0,2	0,16
4	1,1	1,2	1,12	1,14
6	1,13	1,21	1,14	1,16

Tabel Lampiran 2. Populasi Khamir *S. cerevisiae* Air Tahu

Hari	1	2	3	Rerata
0	0,1	0,1	0,1	0,1
2	0,2	0,08	0,1	0,12
4	0,25	0,3	0,5	0,35
6	0,5	0,82	0,7	0,67

Tabel Lampiran 3. Populasi Khamir *S. cerevisiae* Air Leri

Hari	1	2	3	Rerata
0	0,1	0,1	0,1	0,1
2	0,23	0,13	0,27	0,21
4	1,27	0,94	1,3	1,17
6	1,34	1,5	1,44	1,42

Tabel Lampiran 4. Populasi Khamir *S. cerevisiae* Air Kelapa

Hari	1	2	3	Rerata
0	0,1	0,1	0,1	0,1
2	0,3	0,22	0,25	0,25
4	1,47	1,54	1,41	1,47
6	1,59	1,55	1,53	1,55

Tabel Lampiran 5. Daftar Sidik Ragam Populasi Khamir pada Berbagai Media

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> (hari 2)	Between Groups	.028	3	.009	2.629	.122
	Within Groups	.029	8	.004		
	Total	.057	11			
Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> (hari 4)	Between Groups	2.072	3	.691	42.872	.000
	Within Groups	.129	8	.016		
	Total	2.201	11			
Populasi Khamir <i>S. cerevisiae</i> (hari 6)	Between Groups	1.372	3	.457	51.549	.000
	Within Groups	.071	8	.009		
	Total	1.443	11			

Tabel Lampiran 6. Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 2

Sumber	JK	DB	KT	F	ProbF
Perlakuan	840,844135	3	280,2813783	1,94546295	0,162982475**
Residual	2305,10792	16		144,069245	
Total	3145,95205	19		165,5764239	

Tabel Lampiran 7. Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 3

Sumber	JK	DB	KT	F	ProbF
Perlakuan	1164,66464	3	388,2215467	7,053113184	0,003097056**
Residual	880,68128	16	55,04258		
Total	2045,34592	19		107,6497853	

Tabel Lampiran 8. Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 4

Sumber	JK	DB	KT	F	ProbF
Perlakuan	18321,21725	3	610,4057517	18,08436828	2,15785E-05**
Residual	540,0516	16	33,753225	0,013084306	
Total	2371,268855	19		124,8036239	

Tabel Lampiran 9. Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 5

Sumber	JK	DB	KT	F	ProbF
Perlakuan	1771,144615	3	590,3815383	19,50978443	1,35479E-05**
Residual	484,17268	16		30,2607925	
Total	2255,317295	19		118,7009103	

Tabel Lampiran 10. Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 6

Sumber	JK	DB	KT	F	ProbF
Perlakuan	1595,278815	3	531,759605	16,72515453	3,45414E-05**
Residual	508,70404	16		31,7940025	
Total	2103,982855	19		110,7359397	

Tabel Lampiran 11. Daftar Sidik Ragam Uji Antagonis HSI ke 7




Sumber	JK	DB	KT	F	ProbF
Perlakuan	2078,00884	3	692,6696133	25,70494272	2,3353E-06**
Residual	431,15108	16		26,9469425	
Total	2509,15992	19		132,0610484	



Tabel Lampiran 12. Perhitungan Antagonis HSI ke 7

No.	Perlakuan	U1		THR		U2		THR		U3		THR		U4		THR		U5		THR		Rerata
		R1	R2	(%)		R1	R2	(%)		R1	R2	(%)		R1	R2	(%)		R1	R2	(%)		
1	Kontrol	3	3	0		2,6	2,6	0		2,8	2,8	0		2,8	3	0		2,8	2,9	0		0
2	P1	2,1	2,1	30		2,1	2,1	30		2,4	2,5	18,33		2,4	2,5	18,33		2,2	2,5	21,67		23,67
3	P2	2,5	2,5	16,67		2,4	2,4	20		2,4	2,5	18,33		2,4	2,4	20		2,6	2,6	13,33		17,67



Gambar Lampiran 1. Perkembangbiakan khamir dalam berbagai media

No.	Gambar	Keterangan
1		<p>Perbanyakan <i>S. cerevisiae</i> pada media YEPD cair</p>
2		<p>Perbanyakan <i>S. cerevisiae</i> pada media air tahu, air leri, dan air kelapa</p>
4		<p>Perbanyakan <i>S. cerevisiae</i> pada perlakuan shaker</p>

5		<p>Perhitungan OD dengan menggunakan spektrofotometer</p>
6		<p><i>Fusarium</i> sp. pada cabai</p>

